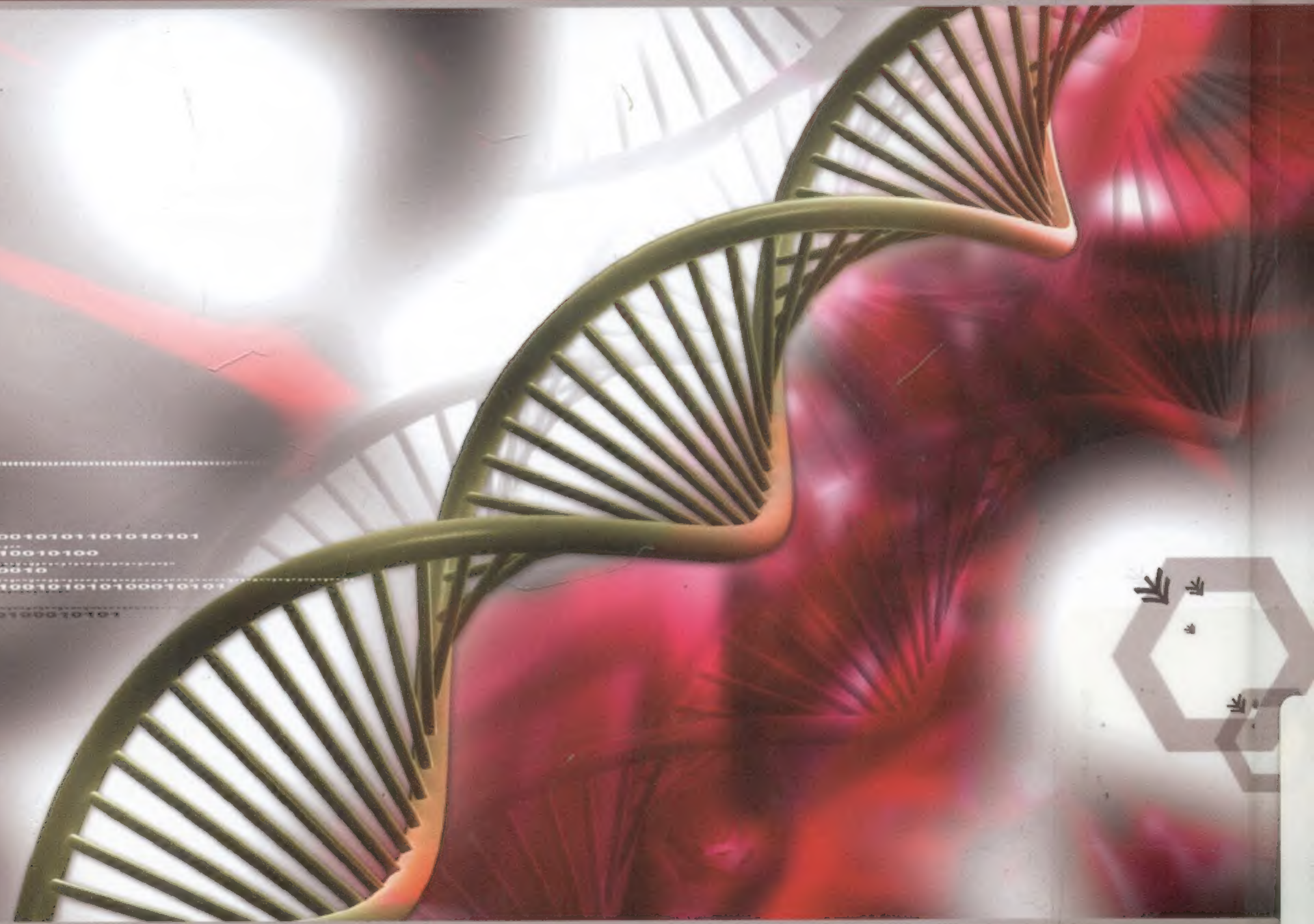


# مقدمة في علم الأحياء الجزيئي

الدكتور  
خالد الكبيسي



[www.darsafa.net](http://www.darsafa.net)









بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ وَقُلْ أَعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ وَسَتُرَدُّونَ ﴾

إِلَىٰ عِلْمِ الْغَيْبِ وَالشَّهَادَةِ فَيُنَبِّئُكُمْ بِمَا كُنتُمْ تَعْمَلُونَ ﴿

صَلَّى  
الْعَظِيمِ

مقدمة في

علم الأحياء الجزيئي



## دار صفاء للنشر والتوزيع

رقم التصنيف 574.1

مقدمة في علم الاحياء الجزيئي

د. خالد الكبيسي

الواصفات: العلوم النظرية // علم الاحياء

رقم الإيداع لدى دائرة المكتبة الوطنية (2015/9/1586)

رقمك ISBN 978-9957-402-46-4

عمان - شارع الملك حسين

مجمع الفحيص التجاري - تليفاكس - +962 6 4612190

هاتف - +962 6 4611169 ص. ب. 922762 عمان - 11192 الأردن

DAR SAFA Publishing - Distributing

Telefax: +962 6 4612190- Tel: + 962 6 4611169

P.O.Box: 922762 Amman 11192- Jordan

E-mail:safa@darsafa1.net

E-mail:safa@darsafa.info

www.darsafa.net

جميع حقوق الطبع محفوظة

ALL RIGHTS RESERVED

جميع الحقوق محفوظة للناشر. لا يسمح بإعادة إصدار الكتاب أو أي جزء منه أو تخزينه في نطاق استعادة المعلومات أو نقله بأي شكل من الأشكال دون إذن خطي من الناشر

All rights Reserved. No part of this book may be reproduced. Stored in a retrieval system. Or transmitted in any form or by any means without prior written permission of the publisher.

**مقدمة في**

# **علم الأحياء الجزيئي**

الدكتور

**خالد الكبيسي**

الطبعة الثانية

2016م - 1437هـ

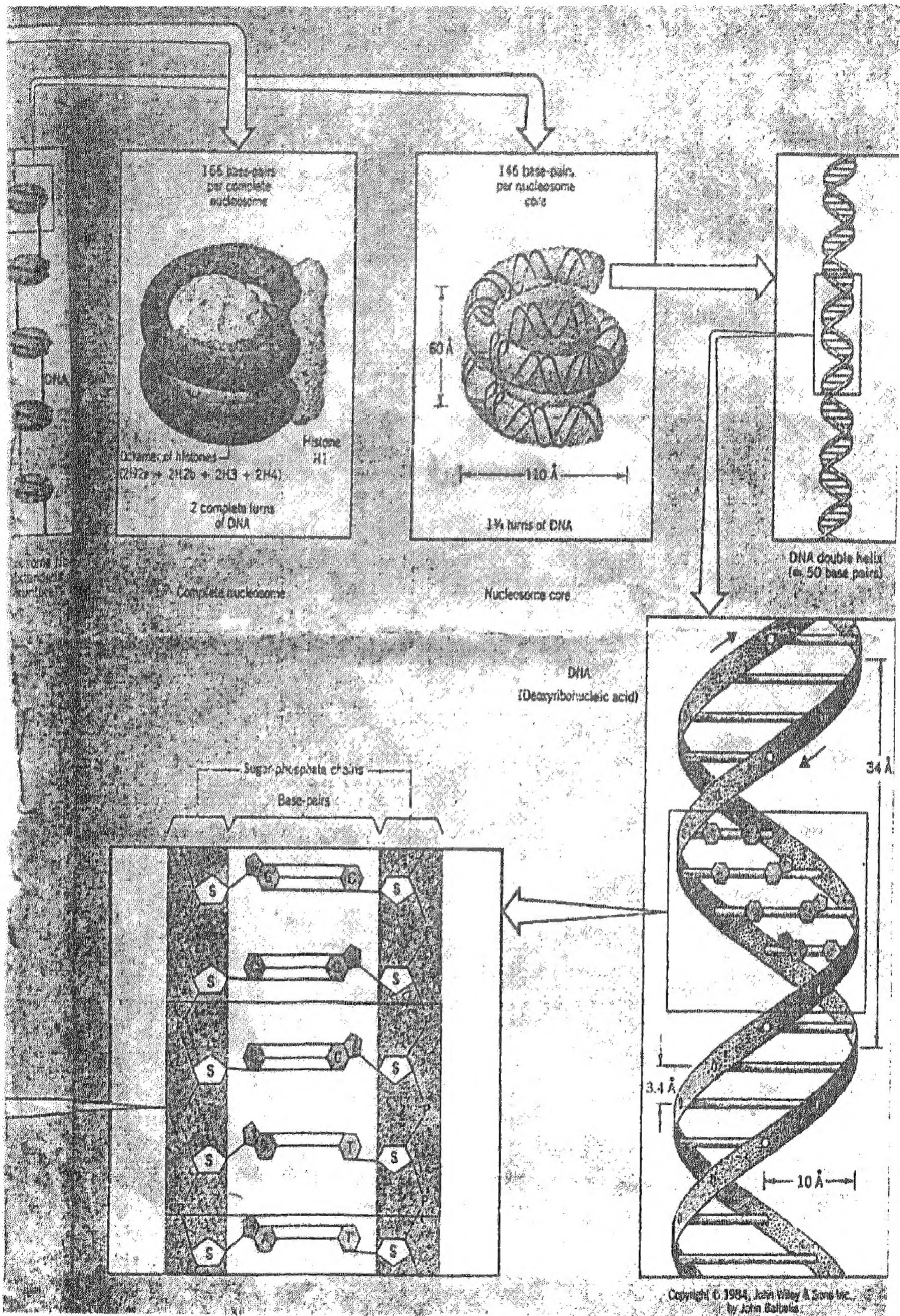


**دار صفاء للنشر والتوزيع - عمان**

# الإهداء

إلى والديّ رحمهما الله  
وزوجتي العزيزة  
وأحبائي فادية ومحمد











## المقدمة

يعتبر علم الأحياء الجزيئي من العلوم الحديثة جدا والتي توسع وتطور في السنوات الأخيرة وشملت حقول عملية وتطبيقية كثيرة وخاصة استخداماته في مجال الطب والصناعة والزراعة والصيدلة وغيرها.

وسعيا مني الى اغناء المكتبة العربية العلمية برفاد علمي جديد ينهل منه الطالب بيسر وسهولة والمهتمين بهذا الحقل من العلوم قمت بتأليف هذا الكتاب المتواضع الذي أود ان ابين انه لا يعني ان هذا الكتاب في درجة عالية من الكمال ولكن اعتقد الاستفادة منه للدراسين والمهتمين على حد سواء لقد ساهمت التطورات في العلوم الكيميائية والفيزيائية مساهمة كبيرة فيما يتعلق بعلم الأحياء الجزيئي نتيجة تقدم الطرق والأساليب المستخدمة في دراسته.

وكما ساهمت الدراسات والابحاث في مجال الكيمياء الحيوية ووراثة البكتيريا والخلية على المستوى الجزيئي في تطور هذا العلم وتوسعه.

الا ان هناك الكثير الذي لا يزال يحتاج الى المزيد من البحث والتمحيص ولقد حاولت جهد الامكان عند كتابة هذا الكتاب الاحاطة بأخر الدراسات في مجال علم الأحياء الجزيئي والاتجاهات الحديثة لتطبيقه .

توخيت عند شروعي في تأليفه بأن يكون شاملا لكثير من الجوانب المتعلقة به في ضوء الخبرة في تدريس هذا المقرر في كليات العلوم المختلفة . وهو يشتمل على احد عشر باباً ينتهي بالتطبيقات العملية في مجال الهندسة الوراثية والتكنولوجيا الحيوية ..

واني لا ازعم انني قد بلغت الغاية وانما هي خطوة على الطريق وبهذا اقدم اعتذاري  
لزملائي وجميع المهتمين في الجامعات العربية عن الأخطاء البسيطة التي قد يجدونها في  
هذا الكتاب وأملّي ان يسهم في دعم المكتبة العلمية العربية وان اكون قد وفقت في عملي  
هذا والله ولي التوفيق .

د . خالد الكبيسي



## المحتويات

٧	المقدمة
الباب الأول	
١٣	الفصل الأول مفهوم وتطور علم الأحياء الجزيئي
الفصل الثاني	
١٩	التركيب العام للخلية
٢١	الكائنات بدائية النواة
٢٢	الفايروسات - المايكو بلازما
٢٣	تركيب خلية البكتيريا
٢٤	الحدار الخلوي - الغلاف البلازمي - الجسم الوسطي
٢٦	الرايبوسومات - النواة البكتيرية - الأسواط والاهداب
٢٦	الكائنات حقيقية النواة
٢٧	الخلية الحيوانية - الخلية النباتية
٣٠	الغلاف البلازمي - العضيات السيتوبلازمية
٣٦	النواة - تركيب النواة - الكروماتين.
الباب الثاني	
٣٩	تكنولوجيا الأحماض النووية
٤١	الفصل الثالث - التركيب الكيميائي الجزيئي للأحماض النووية
٤٢	التركيب الكيميائي للدنا
٤٧	البناء الهندسي للدنا
٤٨	الحلزون المزدوج - البناء الابتدائي والثانوي.

٥٢ هيئة الحلزون المزدوج

٥٤ دنتره الدنا - التهجين الجزئي

٥٥ تكنولوجيا "التهجين"

٥٦ الحامض النووي الرايبوزي - صفاته - انواعه

٥٧ البناء الهندسي لأنواع الرنا

الرسولي - الناقل - الرايبوسومي

#### الفصل الرابع

٦٣ التركيب الكروموسومي الجزئي

٦٥ الدورة الخلوية في حقيقية النواة وبدائية النواة

٦٩ التركيب الكيميائي الجزئي للكروموسومات

٧٣ الجسيمات النووية - البناء الهندسي

٧٤ التركيب الكروموسومي الجزئي في البكتيريا

#### الفصل الخامس

٨١ تضاعف واستنساخ الاحماض النووية

تضاعف الدنا - مقدمة

٨١ خطوات تضاعف الدنا في البكتيريا

٨٦ التضاعف في حقيقية النواة

٨٨ تضاعف الاحتفاظ النصفية

استنساخ ومعالجة الدنا - في بدائية النواة في حقيقية النواة

#### ٩٩ الفصل السادس

الانزيمات - والانزيمات العاملة على الاحماض النووية

١٠١ فصل وتنقية الانزيمات



## آلية فعل الانزيم

- ١٠٢ مشبطات الانزيمات - العوامل المؤثرة لفعل الانزيم  
١٠٤ تقسيم الانزيمات - الامة الطبة لبعض الانزيمات  
١٠٨ الانزيمات العاملة على الاحماض النووية  
١١٠ انزيمات البلمرة  
١١١ الانزيمات المحورة  
١١٤ الانزيمات المحللة

## الفصل السابع

- ١٢٣ البروتينات - التركيب الكيمائي  
١٢٤ الاحماض الامينية  
١٢٥ الببتيدات  
١٢٦ التركيب البنائي للبروتينات  
١٣١ تقسيم البروتينات - خواص البروتينات  
١٣٢ دنرة البروتينات  
١٣٣ استخلاص وتنقية البروتينات

## الفصل الثامن

- ١٣٧ التعبير الجيني - حركة المعلومات  
١٤٢ تنظيم تخليق البروتين - الاويرون

## الفصل التاسع

- ١٤٩ الطفرات  
١٥١ الطفرة على المستوى الجزيئي  
١٥٢ الطفرة الحادثة بفعل الاشعاعات  
١٥٥ الطفرة الحادثة بفعل الكيمياويات

١٦١	الفصل العاشر - المادة الوراثية خارج الكروموسومات التشكل الوراثي
١٦٢	في البكتيريا في الميتوكوندريا في البلاستيدات
١٦٤	الخضراء ناقلات الجينات البلازميدات - لاقمات البكتيريا

### الباب الثالث

#### الفصل الحادي عشر : الاتجاهات الحديثة لعلم الأحياء الجزيئي

١٧٥	الهندسة الوراثية
	مقدمة
١٧٦	تكنولوجيا الهندسة الوراثية
١٧٧	تقنية نقل الكروموسومات
١٧٩	الاندماج الخلوي - تقنية الهيريدوما
١٨٢	عزل الجين - تخليق الجين انزيميا
١٨٥	ناقلات الجين وتضخيم الجين
١٨٨	اعادة التشكل الوراثي للدنا



## الفصل الأول

### تطور علم الأحياء الجزيئي



## تطور علم الأحياء الجزيئي

عند دراستنا لأي علم من العلوم يلزمنا معرفة بسيطة عن التطور الذي حدث لهذا العلم تاريخيا وعن الأشخاص الذين اسهموا في هذا التطور والى تطور التقنيات التي ساهمت في تفسير الكثير من الظواهر والآليات الجزيئية لفك الكثير من الالغاز الحياتية.

نشأ علم الوراثة عام ١٨٦٥ من قبل مندل وبعد اكتشاف تجاربه عام ١٩٠٠ تم الحصول على كثير من الحقائق من التجارب الأخرى على مختلف الكائنات الحية. وفي عام ١٩٠٢ استخدمت كلمة المورثات ( Genes ) من قبل العالم جوهانسن. وافترض فلهم روكس ١٨٨٣ ان الكروموسومات في نواة الخلية حاملة للعوامل الوراثية وفي عام ١٩٠٢ أثبت بوفري وساتون أن المورثات هي اجزاء من الكروموسوم. وقد تطورت نظرية الجين كوحدة من الكروموسوم بواسطة العالم موركان Morgan ومساعديه بدراستهم على ذبابة الفاكهة. وقد عمل مولر Muller على ضم علم الخلية مع علم الوراثة التي ساهمت في وضع نظرية الكروموسوم وسمي بالوراثة الخلوية وفي عام ١٩٣٠ استطاع العالم بيدل Beadle وآخرون على وضع اساس لفهم الخصائص الوظيفية للجينات وهي امتداد لمفهوم الجين التقليدي. والجينات (المورثات) وحدات لا تجزء تركيبه للطفرة ووحدات الوظائف.

وقد عمل العديد من العلماء للكشف عن المفهوم الوظيفي للجينات في خلايا بدائية النواة (البكتيريا) وحقبة النواة.

وتمكن ايفري Avery (١٩٤٤) ومساعديه من تشخيص الجزيئات الكبيرة الحاملة للمعلومات الوراثية في البكتيريا وكذلك العالمان هيرشي وشاس Hershey and Chase (١٩٥٢) في الفايروس اللذين برهنا على ان المادة الوراثية هي DNA وليس البروتين



واستطاع ايفري من اثبات ان المادة التي تغير الصفات في البكتيريا هي الـ DNA .  
ونتيجة للبحوث التي اجراها عدد من العلماء على الحامض النووي الدنا DNA  
مثل جاركاف chargaff (١٩٥٠) والصور المأخوذة بانكسار الاشعة السينية تمكن العالمان  
واطسن وكريك watson and crick (١٩٥٣) من وضع التركيب الحلزوني المزدوج للدنا  
الذي يساهم في فهم الكثير من الحقائق التي يعتمد عليها علم الأحياء الجزيئي .

وقد اكتشف العالم كورنبرك korenberg (١٩٥٧) الانزيم المخلق للدنا والذي  
يعرف ايضا باسمه وتمكن من تخليق الدنا خارج جسم الكائن الحي ( الدراسات الزجاجية )  
in vitro .

وفي التجربة الرائدة التي اجراها العالمان ميسلسون وستال Meselson and stahl  
عام ١٩٥٨ على البكتيريا المعوية اثبتا فيها ان الحامض النووي الدنا يتضاعف بطريقة  
الاحتفاظ النصفى ومن ناحية اخرى اثبت العالم Taylor وآخرون بان التضاعف النصف  
محافظ للدنا يتم في خلايا حقيقية النواة ١٩٦٠ .

ووضع كلا من جاكوب ومونود Jacob and Monod ١٩٦١ نموذج الاوبرون  
لتنظيم التعبير الجيني ( تنظيم تخليق البروتين ) شهدت السبعينات من هذا القرن كثير من  
الاكتشافات وخاصة فيما يخص الانزيمات القاطعة والانزيم الناسخ العاكس التي ادت الى  
نمو واتساع المعلومات في علم الأحياء الجزيئي والذي قادت الى عملية اعادة تشكيل الدنا  
Recomobination DNA واكتشاف تسلسل النكليوتيدات في شريط الحامض النووي  
الدنا .

يعتمد علم الأحياء الجزيئي على علم حياة الخلية ووراثة البكتيريا والكيمياء الحيوية  
وقد ساهمت كثير من التقنيات الحديثه في مجالات مختلفه الى تطور هذا العلم مثل  
التصوير الشعاعي الذاتي ، والطررد المركزي متدرج الكثافه والمجهر الالكتروني والهجرة  
الكهربائية وغيرها .

ويهتم هذا العلم في الكيفية التي يتم فيها تضاعف الجينات والمحافظة على النظام الوراثي الثابت وكيفية تطفير الجين كما انه يهتم في التغيرات الجزيئية للاحماض النووية والتعبير الجيني والكيفية التي تتم فيها اعادة اتحاد وتشكيل الاحماض النووية وتبادل الاجزاء بين مثلا الفايروس والمضيف والكيفية التي يستطيع فيها الحامض النووي ادماج نفسه مع الحامض النووي للمضيف.

لقد قادت كثير من الدراسات الى اتساع مجال علم الاحياء الجزيئي مثل الدراسة المتعلقة بتغير طبيعة الدنا (الذنترة ) عند ارتفاع درجة الحرارة واعادة اتصال الشريطين مع بعضهما عند التبريد البطيء التي قادت الى عملية التهجين كما تم تعين مواقع الجينات والتعبير الجيني وتنظيمه، وفك رموز عملية تنظيم وتضاعف الدنا.

ان جميع الاكتشافات المذكورة اعلاه قادت الى مفهوم الهندسة الوراثية (التلاعب بالجينات والسيطرة عليها ) وشهد العقدين الاخيرين تقدما واسعا في تقنيات الهندسة الوراثية والتي بواسطتها تم فهم العديد من الامراض الوراثية لغرض اصلاحها وفي مجال الانتاج فقد تم فهم الكيفية التي يتم فيها انتاج هورمون الانسولين ( الخاصة بمرض السكر ) والانتروفرون ( مادة مناعية للسيطرة على مرض السرطان ) بالاضافة الى الاتجاهات الحديثة للمناعة للحصول على الكثير من اللقاحات واندساس بعض الجينات المسؤولة عن تكوين الاجسام المضادة في خلايا حقيقية النواة للمفاوية.

كما يجري الآن دس كثير من الجينات في خلايا الامشاج كجين هورمون النمو للحصول على حيوانات كبيرة الحجم كالعجول والدواجن وغير ذلك أو تبديل الجينات غير الطبيعية بجينات طبيعية في نخاع العظم لاصلاح بعض الامراض الوراثية مثل فقر الدم المنجلي وتكسركريات الحمر الثلاسيميا . . .





## **الفصل الثاني**

### **التركيب العام للخلية**



## التركيب العام للخلية

### General structure of the Cell

تقسيم الكائنات الحية من وجهة نظر علم الخلية الى قسمين هما :

١- كائنات بدائية النواة **Procaryotic**

٢- كائنات حقيقية النواة **Eucaryotic**

تمثل الفايروسات والمايكوبلازما والبكتيريا والطحالب الخضراء-المزرقة المجموعة الأولى والتي تتميز بعدم وجود نواة حقيقية لعدم وجود الغلاف النووي وقد استخدمت البكتيريا بشكل خاص في الدراسات الجزيئية وخاصة البكتيريا المعوية **Escherichia coli**.

فالفايروسات ( الرشحيات ) تمثل شكلا من اشكال الحياة وان كان لا تعتبر خلايا **viruses are not cells** وهي اقل تعقيدا من النظام الخلوي لبدائية النواة وحقيقية النواة.

تشارك جميع الفايروسات بخواص اساسية حيث انها جميعا طفيليات اجبارية داخل الخلايا اذ أنها تتطفل على النبات والحيوان والبكتيريا. وتوجد الفايروسات على حالتين مختلفتين أما داخل خلايا المضيف **Host** أو خارج الخلايا والحالة الأخيرة توجد بشكل جزيئة تسمى **virion**.

وبشكل عام فالرشحيات صغيرة الحجم (مثل حجم الرايوسومات) ويبلغ حجمها من ٢٠-٢٠٠ نانومتر وهي تصيب أصغر خلية.

ليس للرشحيات اي من العضيات الخلوية وبهذا فانها لا تقوم بعمليات ايضية (ميتابولزم) ويعتمد تضاعفها على قدرتها للدخول في خلايا الكائنات الحية من البكتيريا وحتى الانسان.



يتألف الفايروس من جزء مركزي للاحماض النووية **DAN** او **RNA** يحاط بغلاف يتكون من جزئيات بروتينية كما تدخل مركبات اخرى مثل الليبيدات او السكريات المعقدة في تركيب غلاف الرشحيات المعقدة. والفايروس الحقيقي يحاط بغلاف مكون من **lipoprotein** ويقوم الغلاف بحماية الفايروس عندما يكون في طور خارج الخلايا اثناء دورة الحياة وفي حماية الحامض النووي من الهضم بالانزيمات داخل الخلايا.

وتقسم الفايروسات اما حسب خلايا المضيف الى فايروسات حيوانية او نباتية او بكتيرية او انها تقسم حسب نوع المادة الوراثية التي يحملها الى **DAN** -فايروس او **RNA** -فايروس.

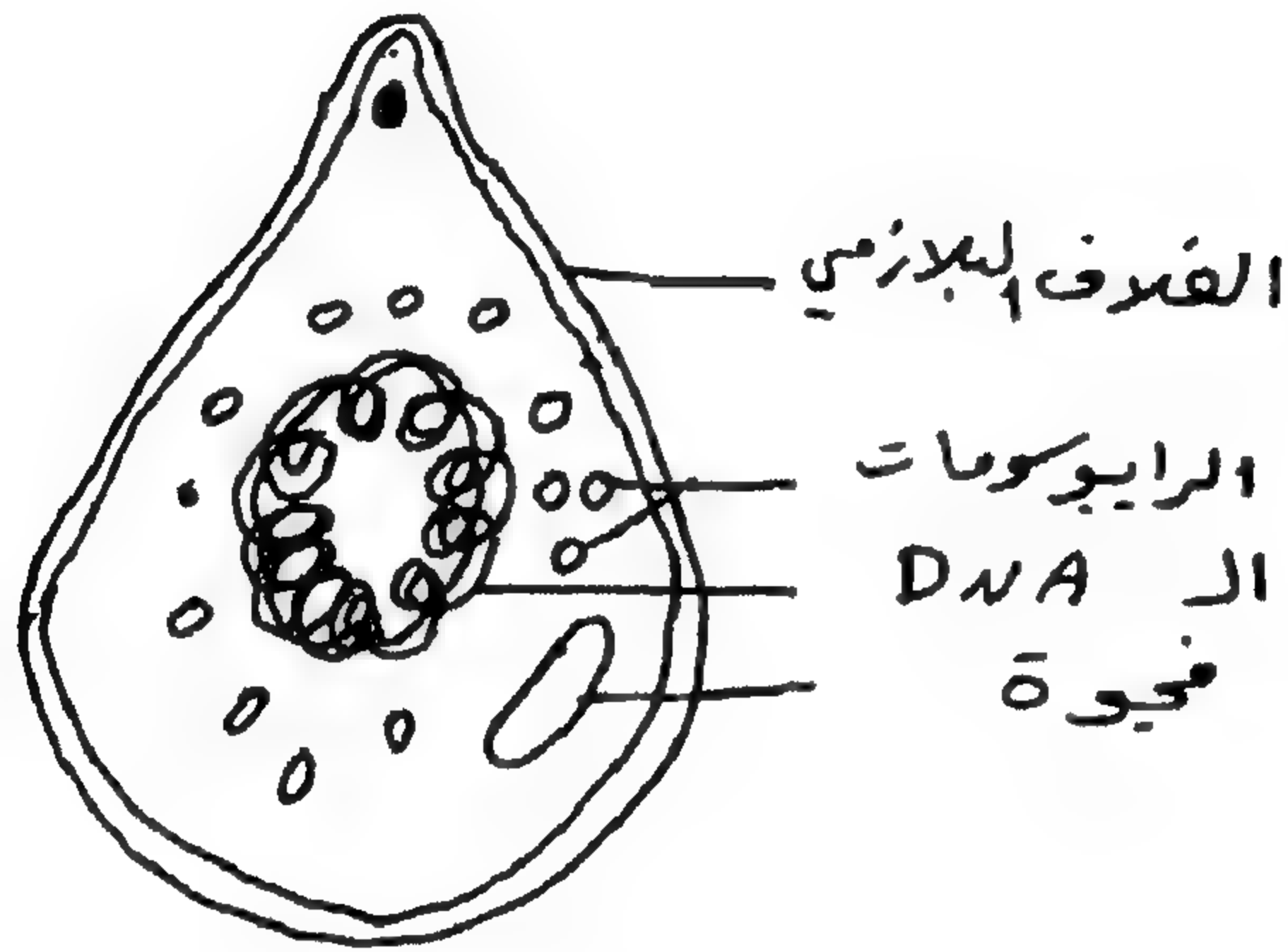
وتتميز الفايروسات بسهولة دراستها على المستوى الجزيئي وذلك لان المادة الوراثية التي تحتويها لها عدد محدود من الجينات.

ومن الجدير بالذكر فان الفايروسات لا تحتوي على الرايبوسومات وهي المواقع التي يتم عليها صناعة البروتين الا انه وجد ان بعض الرشحيات الانحيازية (الارتكاسية) **Retroviruses** التي منها فايروس مرض الايدز **Aids** والتي تنحاز الى الخلايا اللمفاوية للانسان تحتوي على بعض الانزيمات مثل **Reverse transcriptase** الانزيم الناسخ العاكس .

### المايكوبلازما **Mycoplasma**

وتسمى (**pplo**) وذلك لانها تسبب امراض للحيوان والنبات والحشرات حيث انها تتطفل على هذه الكائنات الحية . وهي وكائنات حية خلوية صغيرة تقع بين الرشحيات والبكتيريا ويتراوح حجمها من (٠.١ الى ٠.٣ ميكرون). يحاط جسمها بغلاف بلازمي يتكون من مواد بروتينية حوالي ٧٠٪ ومواد ليبيدية

( دهون ) ٣٠٪ ولا تحاط بجدار خلوي cell wall كما هو الحال في البكتيريا وبداخل الغلاف تقع منطقة المادة الوراثية التي تتكون من الـ DNA الحلقي المكون من سلسلتين مزدوجة كما تنتشر الرايوسومات في السايوبلازم. يتم تضاعفها بالانقسام البسيط أو بتكوين براعم في بعض الانواع. كما أنها تنمو وتعيش في مزارع صناعية ولا تحتاج الى خلايا المضيف لغرض التضاعف ولكنها تنمو وتتكاثر في خلايا المضيف مسببة تأثيرات مرضية.



شكل (٢-١) شكل تخطيطي لخلية المايكوبلازما

## البكتيريا Bacteria

تتميز الخلايا البكتيرية عن خلايا حقيقية النواة من الأحياء الدقيقة في المحتوى وعدد من العضيات الخلوية المشابهة. فحجم خلية البكتيريا يماثل حجم الميتوكوندريا في حقيقية النواة ( الحيوانية والنباتية ) ونظرا لصغر حجم الخلية فان عضياتها تكون صغيرة جدا فهي تحتوي على رايوسومات وعلى منطقة النواة nucleoid .



تحات الخلية البكتيرية بجدار خلوي وهو يختلف عن الجدار الخلوي في الخلية النباتية حيث انه يتكون من البروتينات والسكريات والليبيدات وعلى اساس التركيب الكيماوي للجدار تقسم البكتيريا الى قسمين وهي الموجبة لصبغة كرام **Gram positive** حيث يتكون من سكريات مضاعفة مع بروتينات بحيث يتكون من مادة **Murien** مثل **Bacillus subtilis** وهي اكثر حساسية لمركبات البنسلين.

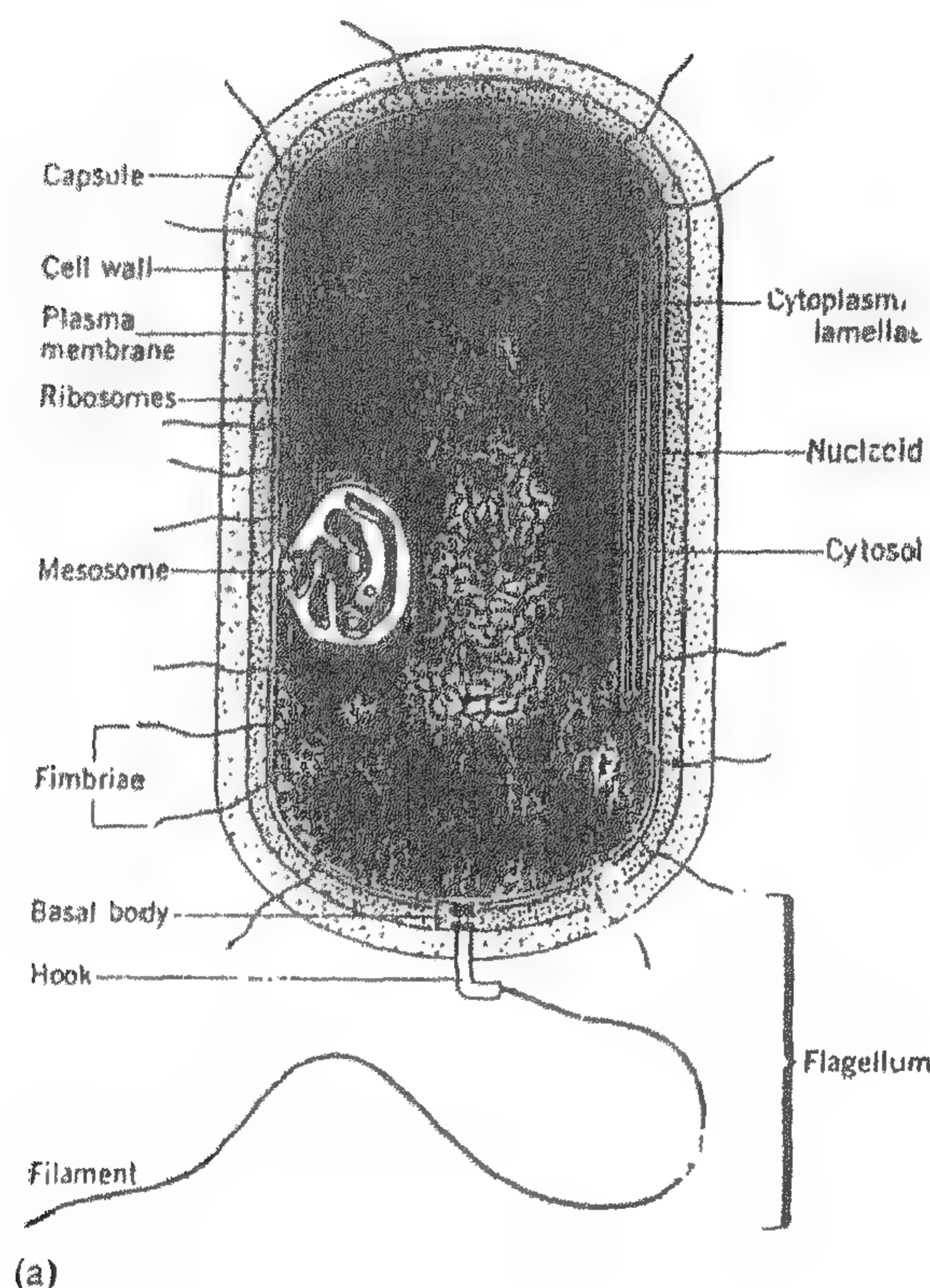
أما النوع الثاني من البكتيريا فهي السالبة لصبغة كرام **Gram-negative** فجدارها مشابهه للبكتيريا الموجبة بالاضافة الى وجود طبقة خارجية اضافية من الليبيدات وهي طبقة سامة للكائنات الاخرى كما هي الحال في بكتيريا القولون **E. coli** وهي اقل حساسية لمركبات البنسلين.

إلى الداخل من الجدار يوجد الغلاف البلازمي **cell membrane** والذي يتكون من البروتين والليبيدات ويمكن هضم الجدار الخلوي بواسطة انزيم اللايسوزيم **lysozyme** بحيث ينزل البروتوبلاست ويصبح حرا. كما توجد مادة الـ **DNA** كجزيئي طويل ورفيع وحلقي ويشغل حوالي ٢٠٪ من التركيب الداخلي للخلية.

ويحاط بتراكيب بروتوبلازمية وهي الرايوسومات التي يبلغ عددها ٢٠-٣٠ ألف وحدة وتتألف من ٤٠٪ بروتين و ٦٠٪ من الـ **RNA** وهي أصغر حجما من رايوسومات الخلايا حقيقية النواة ومعامل ترسيبها ٧٠S بدلا من ٨٠S.

تتكون طبقات الى الداخل من الغلاف البلازمي مكونة تراكيب يطلق عليها بالجسيمات الوسطية **Mesosomes** تلعب دورا في انقسام الخلية كما أنها مواقع لانزيمات المولدة للطاقة ( كما هي الحال في الميتوكوندريا لحقيقية النواة) كما تشكل هذه التراكيب في بعض انواع البكتيريا القدرة على البناء الضوئي عضيات التركيب الضوئي الحاملة للصبغات.

أما النواة البكتيرية فهي لا تنفصل عن السايوبلازم بغلاف ( بدائية ) كما هي الحال في حقيقية النواة، وتحتل محتويات النواة منطقة خاصة من جسم الخلية يطلق عليه شبيه النواة 'nucleoid' ويشكل DNA حوالي ١٪ من كتلة الخلية ولا يرافق ال DNA البروتينات المسماة بالهستونات Histones والموجودة في كروموسومات حقيقية النواة. كما لا توجد النوية.



شكل (٢-٢) يبين تركيب خلية البكتيريا

أما RNA فيشكل حوالي ٦٪ من كتلة الخلية البكتيرية بالإضافة إلى الماء الذي يشكل ٧٠٪ والأملاح ومكونات عضوية أخرى.

## السوط البكتيري : Bacterial flagellum

تمتلك العديد من البكتيريا على سوط واحد أو أكثر والذي يستخدم لحركة الخلية وينشأ السوط من جيبة قاعدية صغيرة. والسوط البكتيري اصغر حجما منه في خلايا الحيوان النبات كما انه ايسط تركيبا حيث انه يتألف من خيط مفرد من البروتين المسمى بالفلاجلين **flagellin**.

## الاهداب Pili

وهي على عدة انواع واطوالها مختلفة تتكون من خيوط رفيعة جدا طولها يتراوح من ٠.٥ - ٢٠ ميكرون ولا ترى الا بالمجهر الالكتروني وتعمل كملزقات (نكتل) **agglutinate** للخلايا ( الدم الحمر وخلايا النبات والخمائر والخلايا الحيوانية ).

تعمل الـ **pili** كقنوات في البكتيريا المقترنة لتبادل المادة الكروموسومية وتتألف من وحدات بروتينية خيطية تسمى بالبلين **pillin** وزنها الجزيئي حوالي ١٧٠٠٠. بعض خيوط الـ **pili** تعمل كمستقبلات للعائيات **phages** وبعضها مرافقة للبكتيريا المسببة للأمراض.

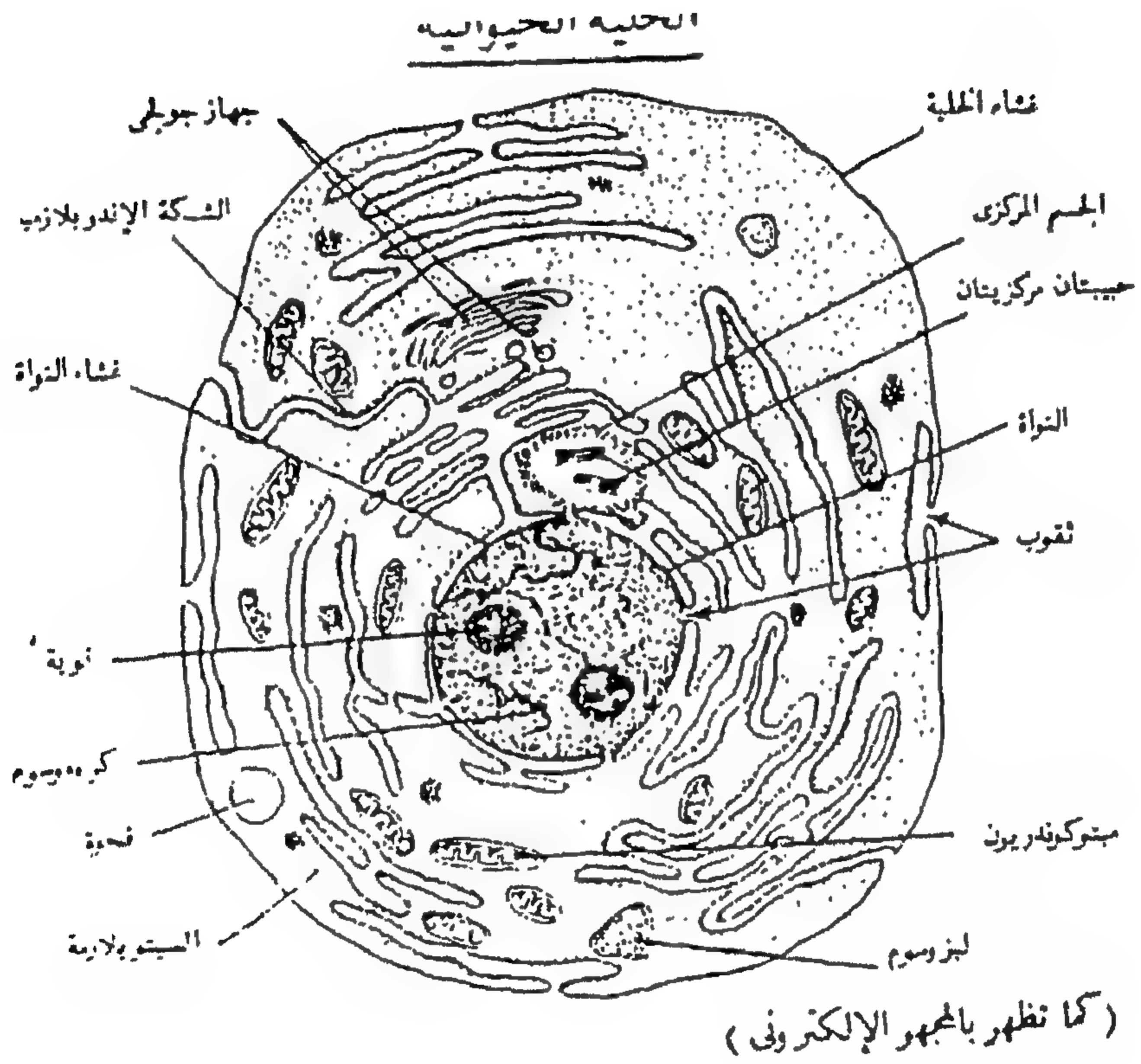
## ٢- الكائنات حقيقية النواة Eukaryotic :

وتكون فيها محتويات النواة مفصولة بواسطة غلاف عن بقية أجزاء الخلية وتمثل الخلايا الحيوانية ومنها الابتدائيات **protozoa** والخلايا النباتية والخمائر والطحالب والفطريات وتمتاز هذه المجموعة عن المجموعة الاولى بكبر حجمها وتعقيد تركيبها الداخلي. الا انها تختلف فيما بينها من حيث الحجم والشكل والتركيب والوظيفة ويمكن ملاحظة الشكل رقم (٢ - ٣) الذي يبين بعض انواع الخلايا الحيوانية والنباتية.



## محتويات الخلية

يتميز البروتوبلازم للخلية إلى قسمين أساسيين هما للبلازما النووية **nucleoplasm** والقسم الثاني يحيط بالنواة يسمى بالسائتوبلازم **cytoplasm**.  
تفصل النواة عن السائتوبلازم بواسطة غلاف يسمى بالغلاف النووي **nuclear membrane** وتحاط الخلية بأكملها بواسطة غلاف الخلية **cell membrane** أو ما يسمى بالبلازما **Plasma-lemma** وتعمل هذه الاغلفة على حماية المحتويات الداخلية وتنظيم تبادل المواد بين النواة والسائتوبلازم من جهة وبين الخلية والوسط الخارجي من جهة ثانية.  
يحتوي السائتوبلازم على تراكيب حية عديدة تسمى بالعضيات السائتوبلازمية **cytoplasmic organelles**.  
كما يحتوي على مواد اخرى غير حية مثل النشا والنشا الحيواني وقطرات زيتية واصباغ ومواد افرازية وافراغية وغيرها.



شكل (٢-٣) يبين تركيب الخلية الحيوانية

## الغلاف الخلوي : Cell Membrane

اوضحت العديد من الدراسات إلى ان الغلاف الخلوي وفي انواع مختلفة من الخلايا انه يتركب من الليبيدات والبروتينات ويبدو بالمجهر الالكتروني بعد استخدام رابع اوكسيد الاوزميوم بانه تركيب ثلاثي الطبقات طبقة مركزية فاتحة اللون محاطة بطبقتين غامقتي اللون. فالطبقات الغامقة تمثل البروتينات أما الطبقة المركزية الفاتحة فتمثل الليبيدات وقد تأكد من وجود ثقب دقيقة في الغشاء وثبت ايضا ان بعض الثقوب تحمل شحنات كهربائية موجبة أو سالبة وتعمل هذه الثقوب على التنظيم والسيطرة لمرور الأيونات.

وقد وضع العالمان سنجر ونيكلسون عام ١٩٧٢ **Singer and Nicolson** والذي يلقي قبولاً كبيراً نموذجاً لتركيب الغشاء وهو النموذج الموزائيكي السائل **fluid-mosaic model** وخلاصة النموذج هو ان الغلاف الخلوي يتكون من طبقة دهنية ثنائية الجزئيات تحاط من السطح بطبقة بروتينية قسما من البروتين متصل مع الجزء القطبي للدهون وسمي بالبروتين المحيطي والقسم الآخر يدخل بين جزئيات الدهون الى الداخل ويسمى بالبروتين المكمل وتتصل مع البروتين سلاسل من السكريات تسمى **glyco protein** وتلعب هذه السكريات دورا هاما في بعض الظواهر الفسيولوجية كالتصاق الخلايا ببعضها.

أما لييدات الغشاء فاغلبها من نوع الليبيدات الفوسفاتية والكوليسترولية كما تستخدم مع الليبيدات مواد سكرية مكونة السكريات الليبيدية **glycolipids**.

لقد دعم هذا النموذج عن طريق تقنية تسمى بالتكسير التجمدي: **freeze**

**fracture analysis** والخدش التجمدي **freeze-etching**

ويبين النموذج الموزائيكي السائل ان الغلاف في حالة ديناميكية حيث ان



للبروتينات والمواد الدهنية القدرة العالية على الحركة تحت ظروف فسيولوجية اذ يقوم بتنظيم حركة الذائبات والمذيبات من الخلية واليها ويكون اختياري النفاذية **selectively permeable** حيث يسمح بمرور مواد ويمنع مرور اخرى ، وتعتمد النفاذية على عوامل عدة مثل الحالة الفسيولوجية للخلية ودرجة تركيز الاملاح في الوسط المحيط بالخلية ودرجات الحرارة.

### العضيات الساييتوبلازمية: cytoplasmic organelles

#### الشبكة الاندوبلازمية: Endoplasmic Reticulum

لاحظ بورتر **Borter** عام ١٩٤٥ ان ارضية الساييتوبلازم تحتوي على جهاز من التجاويف الدقيقة المتفرعة المحاطة باغشية اطلق عليها الشبكة الاندوبلازمية (يرمز لها **E R**).

وتأكد من وجود هذه الشبكة في ما بعد بواسطة المجهر الالكتروني ويفترض ان هذه الشبكة تقسم الساييتوبلازم إلى قسمين قسم داخلي وقسم خارجي محيطي يسمى بالساييتوسول **Cytosol** وغلاف الشبكة له مساحة سطحية تبلغ عشرة أضعاف المساحة السطحية للغلاف البلازمي.

تتصل بالغشاء البلازمي من الخارج وبالغشاء النووي من الداخل.

وتقسم الشبكة الاندوبلازمية إلى نوعين هما :

#### ١- الشبكة الاندوبلازمية الخشنة : **Rough E R**

يتميز هذا النوع بوجود عدد كبير من الجينات الدقيقة على السطح الخارجي للشبكة تسمى بالرايوسومات وتكثر في الخلايا التي تنتج البروتين مثل الانزيمات والغدد الفارزة مثل الكبد والبنكرياس وتكون نامية بشكل جيد.

#### ٢- الشبكة الاندوبلازمية الملساء : **Smooth E R**

يمتاز هذا النوع بخلوه من الرايبوسومات وتحتوي اغشيتها على انزيمات ضرورية في تخليق مركبات ليبيدية مثل الستيروولات وفوسفانيدات ومن المحتمل انها تلعب دوراً في ايض الليبيدات. ويكثر جودها في خلايا الكبد وخلايا الانسجة الدهنية. يعتقد ان الشبكة الاندوبلازمية تقوم بوظائف اخرى مثل النقل بين الاجزاء السايٲوبلازمية المختلفة. كما انها تقوم في العضلات بالتهيج العضلي من السطح إلى داخل الخلية في اللييفات العضلية حيث يفرز ايون الكالسيوم الهام في العملية. وتكون اغشية الشبكة الاندوبلازمية من مواد دهنية وبروتينية متحدة مع بعضها البعض فيما يسمى بالليوبروتين.

كذلك وجد باستخدام تقنية التصوير الشعاعي الذاتي **Autoradiography** ان الانزيمات اللازمة لتخليق الكلايكوجين توجد في اغشية الشبكة الاندوبلازمية الملساء كما وجد أنها تحتوي على انزيمات تعمل على ازالة السمية **Detoxification** لبعض العقاقير والمواد المسرطنة والمطفرة.

### الرايبوسومات The Ribosomes

وهي عبارة عن جسيمات صغيرة تقع على السطح الخارجي للشبكة الاندوبلازمية أو توجد حرة في السايٲوبلازم وتتكون كيميائيا من البروتين والحامض النووي الرايبوزي **RNA**.

الوظيفة الاساسية للرايبوسومات هي تخليق البروتين وستكلم عن هذه العملية تفصيلا في الفصل الثامن.

### اجسام كولجي The Golgi complex

وهي تشبه تركيب الشبكة الاندوبلازمية وهي عبارة عن مجموعة من الاكياس

المسطحة تعرف بالصهاريج وخالية من الرايوسومات وقد اكتشف هذا التركيب عام ١٨٩٨م من قبل العالم كامليو كولجي له القابلية على ترسيب نترات الفضة ورابع اوكسيد الازومبوم يتراوح عدد الصهاريج المكونة لجهاز كولجي في معظم الخلايا الحيوانية والنباتية بين ( ٣-٧ ) .

يعتمد عدد أجهزة كولجي في الخلية على نوع الخلية ونشاطها الايضي .  
ويتكون جهاز كولجي كميائيا من مواد دهنية وبروتينية متحدة مع بعضها في مادة ليوبروتينية معقدة التركيب . يكثر وجوده في الخلايا الفارزة حيث انها تلعب دوراً هاماً في عمليات الافراز الخلوي مثل المواد الخام والتي تتكون منها الانزيمات والتي تعرف بالزايموجين **zymogen** وافراز الصفراء والمواد المخاطية من الخلايا الكأسية الموجودة في النسيج الطلائي للأمعاء كما يعتقد ان له دور في تكوين الجسم القمي للحيوانات المنوية والسائل الزجاجي في المفاصل .  
أما في الخلايا النباتية فيقوم بافراز المواد البكتينية وانصاف السليلوز المكونات الرئيسية للصفحة الخلوية لجدار الخلايا النباتية المنقسمة .

### الاجسام الحالة The Lysosomes

تحتوي العديد من الخلايا الحيوانية وكذلك النباتية على تراكيب حويصلية أو كروية الشكل أصغر من الميتوكوندريا محاطة بغشاء مفرد وتحتوي على انزيمات محللة مختلفة لها القدرة على هضم البروتينات والاحماض النووية والكاربوهيدرات والليبيدات وعند تحطم الغلاف تنطلق الانزيمات وتهضم الخلية ويعتقد انها المسؤولة عد الهضم داخل الخلايا للجزيئات التي تدخل بطريقة الادخال الخلوي **Endocytosis** كما تلعب دورا مهما في تحطيم الخلايا الميتة لكي تستبدل باخرى جديدة وعند الاستحالة في اختفاء الذيل في الضفدع .



أما أصل هذه الجسيمات فاما يكون من الشبكة الاندوبلازمية أو جهاز كولجي أو كليهما.

### الاجسام الدقيقة Microbodies

وهي عبارة عن تراكيب بيضوية الشكل محاطة بغشاء ليوبروتيني مفرد. توجد في انواع مختلفة من الخلايا الحيوانية والنباتية .  
وتوجد على نوعين هما:

١- الكلايوكسيسومات Glyoxysomes توجد فقط في الخلايا النباتية تحتوي على انزيمات تقوم بتحويل المواد الدهنية إلى كاربوهيدرات حيث يتكون نتيجة ذلك بيروكسيد الهيدروجين وهي مادة سامة لذلك يقوم انزيم الكاتليز catalyase الحاوية عليه بتحله إلى الماء والاكسجين.

٢- البيروكسيسومات peroxisomes توجد في الخلايا الحيوانية والنباتية تتميز باحتواءها على عدد من الانزيمات مثل D,L-aminoacid-oxidase-catalase والـ urate-oxidase والـ peroxidase والـ oxidas

تلمب هذه الجسيمات دورا مهما في عملية تحلل بيروكسيد الهيدروجين السام في الخلايا الحيوانية والنباتية إلى الماء والاكسجين .  
وفي الخلايا النباتية تؤدي دورا هاما في عملية التنفس الضوئي photorespiration الحاصل اثناء عملية البناء الضوئي .

### الفجوات The vacuoles

تحتوي الخلايا الحيوانية وخاصة النباتية منها على فجوات ممتلئة بمادة سائلة وتوجد انواع مختلفة من الفجوات في الحيوانات الابتدائية protozoa مثل

الفجوات الانقباضية **contractile vacuoles** التي تلعب دورا هاما في عملية تنظيم الضغط الاسموزي. كما توجد فجوات غذائية **food vacuoles** تحتوي بداخلها على دقائق غذائية وكائنات حية صغيرة.

كذلك تحتوي الخلايا النباتية الفتية على عدد من الفجوات التي تتسع تدريجيا وتتحد مع بعضها اثناء نمو الخلية حيث تكون في النهاية فجوة كبيرة مركزية في الخلية البالغة وتحتوي على مواد ايسية مختلفة بالاضافة الى الماء والاملاح وبعض الاصباغ.

### الميتوكوندريا : The Mitochondria

وهي تراكيب سايتوبلازمية حبيبية أو خيطية الشكل ويتغير شكلها اعتمادا على الحالة الفسيولوجية للخلية أو معاملتها ببعض المواد اما حجمها فيبلغ (٥, ٠ - ١ ميكرون) في القطر وإلى ٧ ميكرون طولاً .

وتوجد في جميع الخلايا حقيقية النواة التي تتنفس هوائياً.

ويختلف عددها حسب نوع الخلية ففي الخلايا الكبدية توجد أكثر من ١٦٠٠ وفي انواع من الاميبا توجد حوالي نصف مليون، أما في الخلايا النباتية فان عددها اقل مما في الخلايا الحيوانية، وفي الطحالب مثل الكلاميدوموناس والميكروموناس تحتوي الخلية على ميتوكوندريا واحدة فقط كبيرة.

وبما ان الميتوكوندريا المجهز الرئيسي للطاقة يطلق عليها احيانا بيت الطاقة **power house** فان توزيعها في الخلية يعتمد على النشاط الايضي الحاصل في الخلية. ففي الخلايا العضلية تترتب بشكل صفوف بين وحدات التقلص العضلي. وتتجمع بشكل حلقة في ذيل السبرم. وفي بعض الخلايا يلاحظ انها ثابتة وفي الخلايا المنقسمة تبدو متحركة.

تحات الميتوكوندريا بواسطة غلافين الخارجى املس اما الداخلى فيكون ذو طيات للداخل تسمى بالاعراف **Cristae** ويختلف عدد وشكل الاعراف باختلاف الخلايا والكائنات الحية.

اما المكونات الكيميائية فقد وجد انها تحتوي على حوالي ٧٠٪ بروتين و ٢٥٪ ليبيدات و ٥, ٠٪ RNA و كمية صغيرة من ال DNA .

وتعتبر الميتوكوندريا المستودع الرئيسى للانزيمات التنفسية في الخلية وفيها يتم انتاج مركب الطاقة الادينوسين ثلاثي الفوسفات **ATP** نتيجة اكسدة مواد التفاعل الاولى المختلفة.

كما تحتوي الميتوكوندريا على رايبوسومات خاصة بها مشابهة لرايبوسومات البكتيريا.

### البلاستيدات :- Plastids

وهي عضيات خلوية متخصصة توجد في سايتوبلازم الخلايا النباتية حقيقية النواة تختلف في شكلها وحجمها وتركيبها وعددها.

واهم هذه البلاستيدات واكثرها شيوعاً هي البلاستيدات الخضراء **chloroplast** تختلف في شكلها وعددها ففي الخلايا النباتية الراقية يكون شكلها عديسي او بيضوي او كروي يتراوح قطرها من ٤-٥ ميكرون وطولها يصل حوالي ١٠ ميكرون. او قد تكون حلزونية او كاسية او نجمية او مفصصة كما في بعض انواع الطحالب. موقعها غير محدد في الخلية حيث تتحرك باستمرار في السايوبلازم.

المكونات الكيميائية ٦٠٪ بروتين حوالي ٣٠٪ دهون و ٧٪ صبغات و ١-٥٪ RNA و ٠, ١٪ DNA .

تحات البلاستيدة الخضراء بغشاء مزدوج من مواد ليوبروتينية الاغشية الداخلية



تترتب بشكل صفائح تسمى بالثيلاكويد **Thylakoids** تترتب بشكل مجاميع يطلق على كل مجموعة اسم البذيرة **Granum** وتتصل كل بذيرة مع البذيرة الاخرى عن طريق صفيحة السدى **stroma thylakoids** ويتراوح عدد البذيرات في البلاستيدة الواحدة. من ٤٠-٦٠ بذيرة وتنغمر البذيرات في مادة الحشوة ( السدى ) **stroma** التي تحتوي على المادة الوراثية **DNA** وعلى الرايبوسومات تحتوي البلاستيدات على اصباغ خضراء اللون يطلق عليها اسم الكلوروفيلات **chlorophylls** واشباه الكاروتينات **carotenoid** صفراء-حمراء اللون.

تعد البلاستيدات الخضراء موضعاً لاهم التفاعلات البيوكيميائية حيث تحتوي على الآلية اللازمة لالتقاط الطاقة الضوئية ونحويلها إلى طاقة كيميائية تكون على شكل جزئيات **ATP** وهناك طاقة مختزنة اخرى تعمل على اختزال ثاني اكسيد الكربون إلى السكريات وترتبط عدد من الانزيمات المسؤولة عن العملية الاولى في البذيرات اما الانزيمات المسؤولة عن العملية الثانية فتكون موجودة في حشوة البلاستيدة **stroma**.

## النواة Nucleus

تتميز الخلايا حقيقية النواة بوجود تركيب كروي او بيضوي الشكل أو يكون مغزلي أو مفصص يطلق عليه اسم النواة.

تمتلك معظم الخلايا الحيوانية والنباتية على نواة واحدة ويكن بعضها يمتلك أكثر من نواة وبعضها لا يمتلك نواة في فترة من دورة حياتها مثل كريات الدم الحمراء.

ويختلف موقع النواة فقد تكون مركزية أو محيطية ويتراوح حجمها من ٣-٢٥ ميكرون.

وعند فحص خلايا تحت المجهر الضوئي تبدو نواة الطور البيني  
**Interphase** مكونة من الاقسام التالية :

١- الغلاف النووي **Nuclear Envelope**

٢- العصير النووي **Nuclear Sap**

٣- الكروماتين **Chromatine**

٤- النوية **Nucleolus**

الغلاف النووي : وهو غشاء رقيق مزدوج وهو الحد الفاصل بين محتويات  
النواة والساييتوبلازم . وعند فحصه تحت المجهر الالكتروني وجد انه يتألف من  
غشائين مفصولين عن بعضهما بفسحة سمكها ١٠-١٥ ميكرون يلتقيان بعدة مناطق  
مشكلة الثقوب النووية **Nuclear Pores** يختلف عددها باختلاف الحالة  
الفسيولوجية للخلية وهي عمرات لتبادل المواد بين النواة والساييتوبلازم .

العصير النووي : وهو مادة جيلاتينية تتألف من محلول غروي شبه سائل  
تنغمر فيه خيوط الكروماتين والنوية ويكون ضعيف الاضطباغ .

الكروماتين : يتألف من حلزون مزدوج من الحامض النووي **DNA** ترتبط  
معه بروتينات تسمى بالهستونات واللاهستونات يوجد نوعين من الكروماتين هما :  
الكروماتين الحقيقي **Euchromatine** وهو الجزء الفعال من الناحية  
الوراثية ويكون على شكل خيوط رفيعة غير ملتفة وفاتح اللون .

الكروماتين المغاير **Heterochromatine** وهو جزء غير فعال من  
الناحية الوراثية يكون كثير الطيات ويضطبع بشدة بالضغوط القاعدية .

وتشكل تجمعات الكروماتين تراكيب خيطية متشابكة تسمى بالصبغيات  
**chromosomes** (الكروموسومات) وهي المادة الاساسية للوراثه .

النوية : تبدو تحت المجهر الضوئي كجسم صغير كروي حبيبي كثيف متجانس

غير محاط بغشاء . يعتمد عددها وحجمها على نوع الفعالية البنائية للخلية فالخلايا ذات المستوى العالي من البروتين تكون نوياتها كبيرة الحجم وكثيرة العدد كما في خلايا البنكرياس وخلايا الفلق .

تتكون كميائيا من البروتين والحامض النووي الرايبوزي RNA يوجه بناء الـ RNA في النوية منطقة معينة على كروموسومات معينة تسمى بمنطقة تنظيم النوية .

### تشخيص الاحماض النووية :-

يتم تشخيص الحامض النووي DNA بطريقة فولكن حيث يتم الحصول على الالديهيدات من السكر بمعاملة الخلايا مع Hcl IN على درجة حرارة ٦٠م° ولمدة ربع ساعه ( تحلل مائي ) ثم تعامل الخلايا مع كاشف شيف Schiff فيتكون لون أحمر ارجواني دليل على الـ DNA .

أو باستخدام صبغة أزور بـ ( Azur B ) حيث يتلون الـ DNA باللون الازرق المخضر في حين يتكون RNA باللون الارجواني .

## **الفصل الثالث**

### **التركيب الكيميائي الجزيئي للاحماض النووية**





## الاحماض النووية

## Nucleic Acids

### التركيب الجزيئي الكيميائي

سميت هذه الاحماض بالنوية لانها اكتشفت لأول مرة في النواة من قبل العالم ميسر **Miescher** حيث فصل من انوية الكريات البيض وحيات السمك وقد وجد أن ٦٠٪ هي احماض نووية و ٣٥٪ بروتينات و ٥٪ دهون وسكريات واملاح .

الا انه ظهر فيما بعد ان الاحماض النووية موجودة في عضيات اخرى في الساييتوبلازم ومثل الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء ولكنها بكميات اقل وكذلك البلازيمات وهي قطع من الـ **DNA** في ساييتوبلازم البكتيريا .

يوجد نوعان من الاحماض النووية هما الحامض النووي الذي او كسيرايوز **(DNA) Desoxyribonucleic acid** أي منقوص جزيئة اوكسجين والحامض النووي الرايبوزي **(RNA) Ribonucleic acid** وفي خلية البكتيريا التي تعتبر مصدر هام للاحماض النووية وجد أنها تحتوي على ١٪ من **DNA** وعلى ٦٪ من الـ **RNA**

الـ **DNA** يحمل المعلومات الوراثية والـ **RNA** يقوم بعملية تخليق البروتينات .

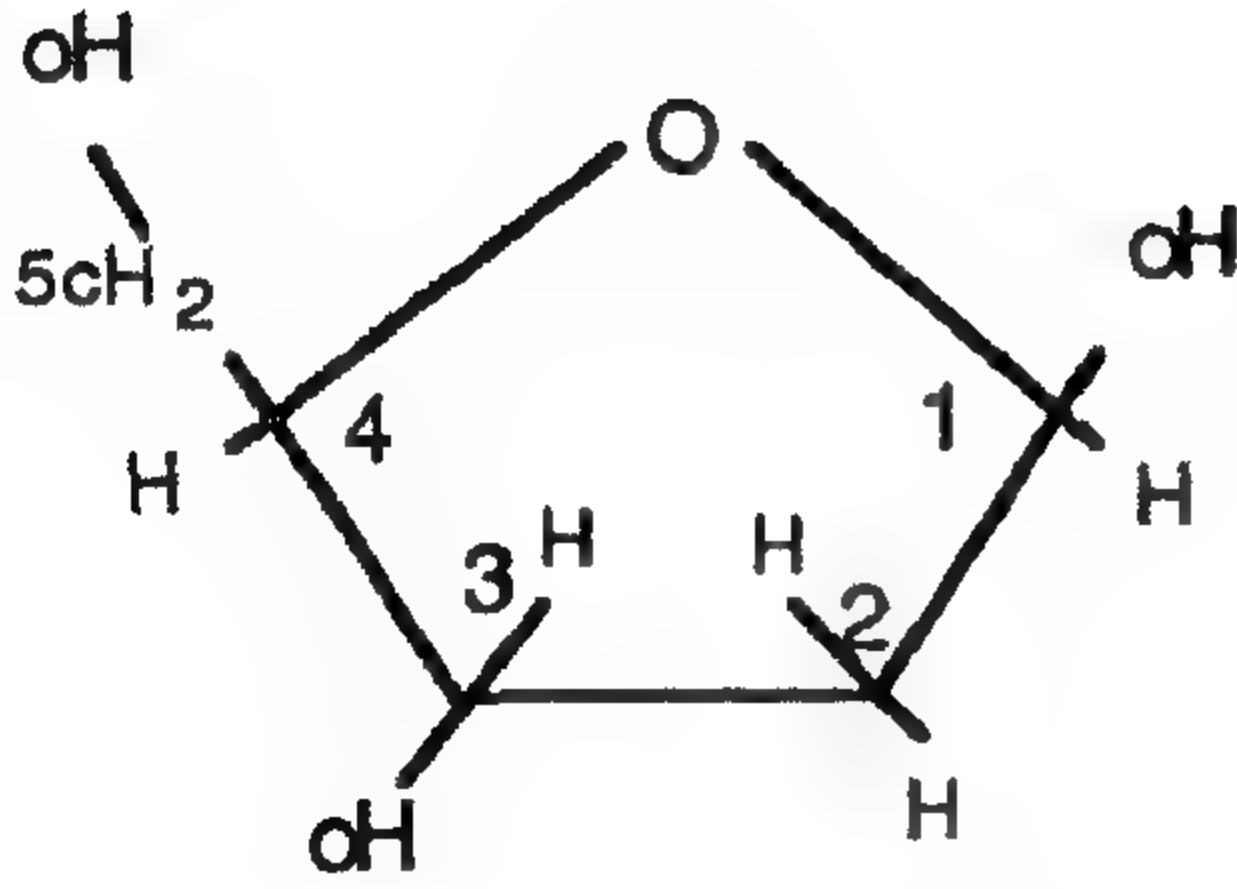
والاحماض النووية مواد عضوية ذات جزيئات كبيرة اكبر من جزيئات البروتينات ووزنها الجزيئي يبلغ حوالي البليون . تتألف من وحدات يطلق عليها اسم النيكلوتيدات **nucleotides** .

## المكونات الكيميائية :-

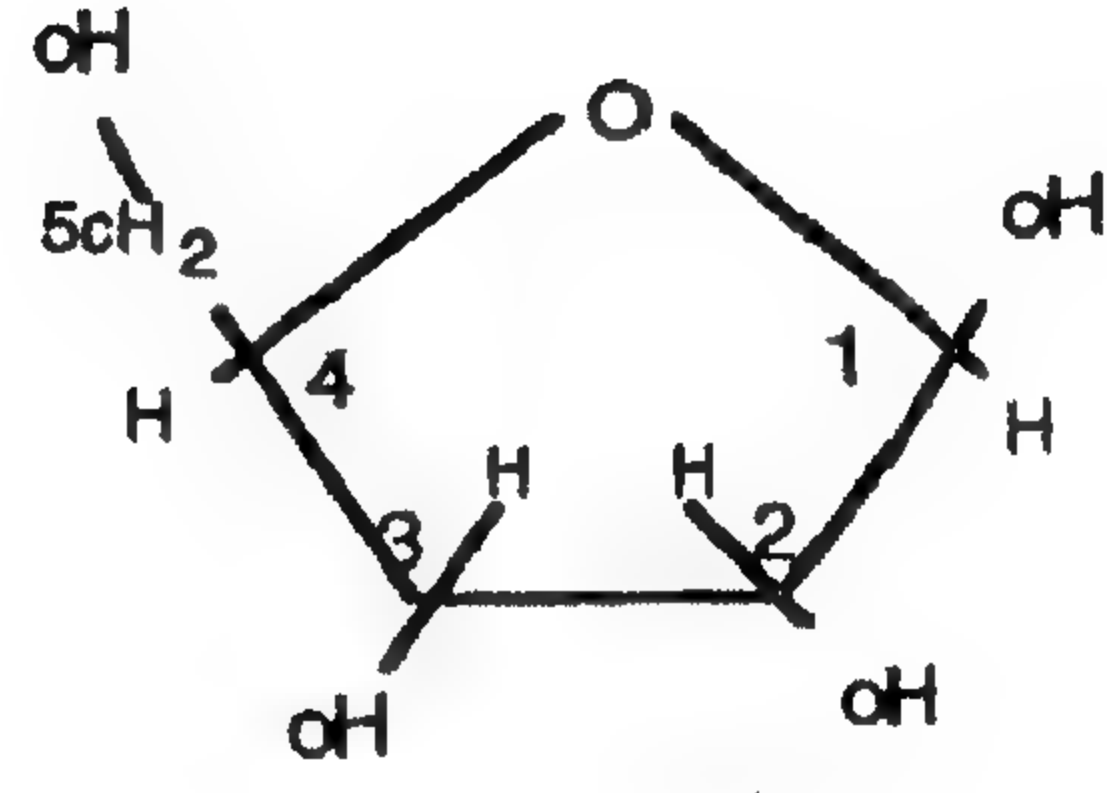
تتألف الاحماض النووية من وحدات يطلق عليها بالنيكليوتيدات كل وحدة تتكون من ثلاثة اجزاء هي :

### أ- السكريات Sugars

وهو سكر خماسي ذرات الكربون **pentose** ويختلف الـ **DNA** عن الـ **RNA** في ان السكر الخماسي **Ribose** يكون منقوص الاوكسجين في الاول (  $C_5H_{10}O_4$  ) وذلك في موقع ذرة الكربون رقم ٢ الشكل (١-٣) يوضح التركيب البنائي لجزيئات السكر .



سكر الذي اوكسينايزوز  
(منقوص الاوكسجين على ذرة الكربون 2)

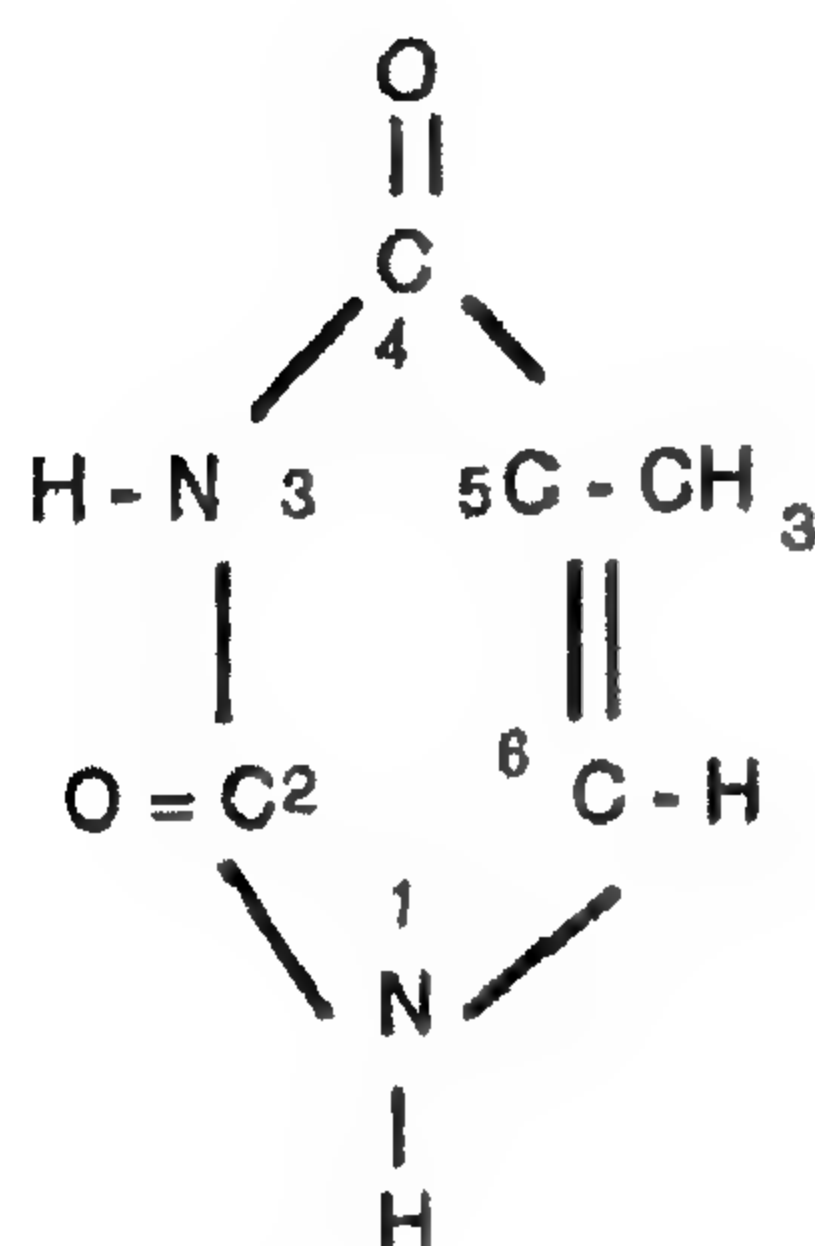


سكر الرايوز

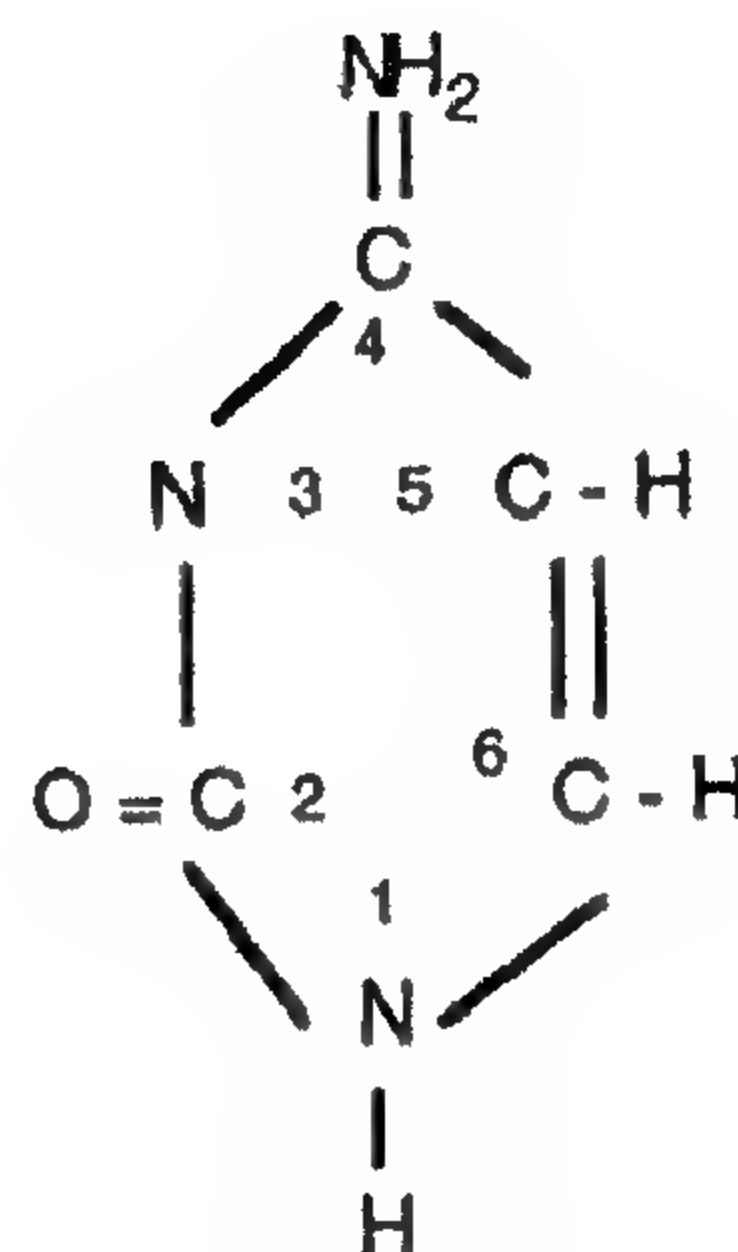
### ب- القواعد النتروجينية : Nitrogenous Bases

وتتكون من نوعين مختلفين في التركيب والصفات الكيميائية احدهما ويطلق عليها بالبريميدينيات **Pyrimidienes** والتي تشتق من هيكل البنزين وهي حلقة سداسية حيث يحل N محل الـ CH في المكانين ١ ، ٣ ، كما في الشكل (٢-٣) .

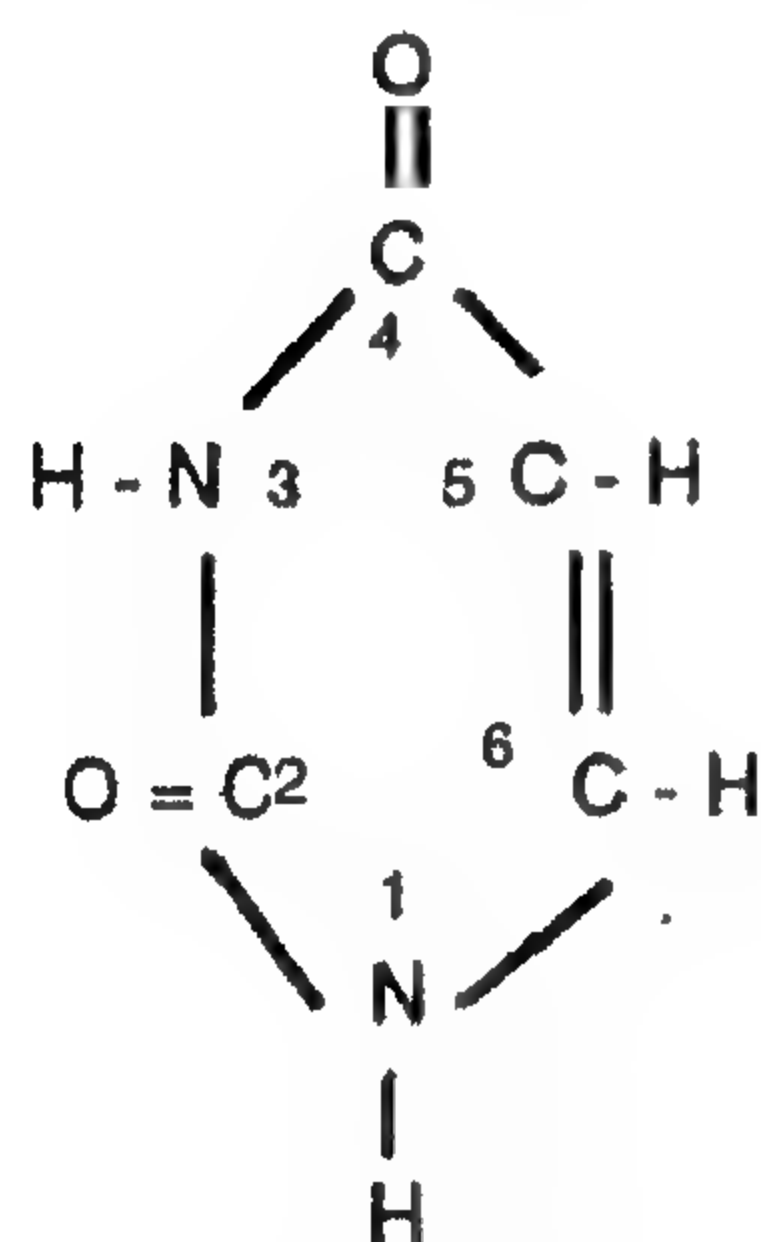
ويشتق منها الثايمين (T) واليوراسيل (U) **Uracile (U)**  
والسايروسين (c) **Cytosine (c)** .



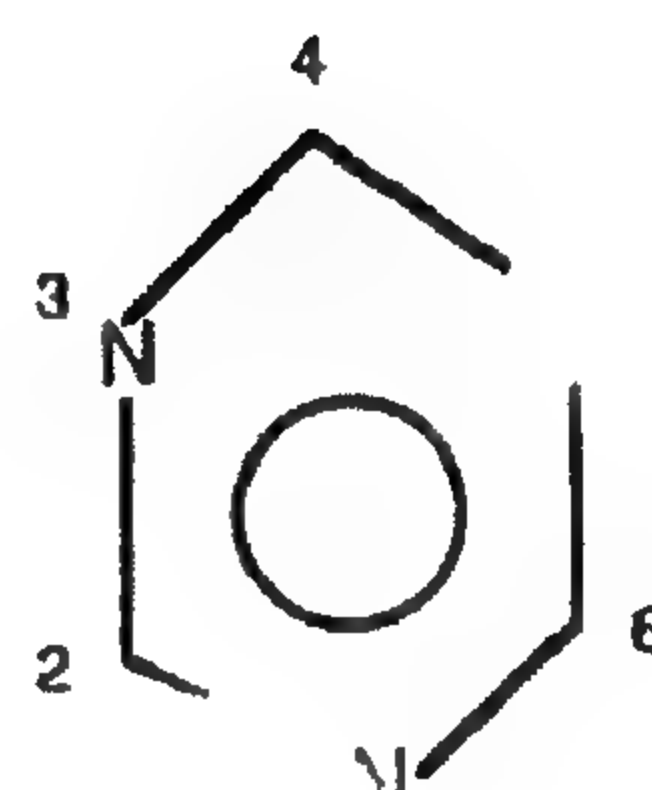
الثايمين Thymine



السايروسين (2)

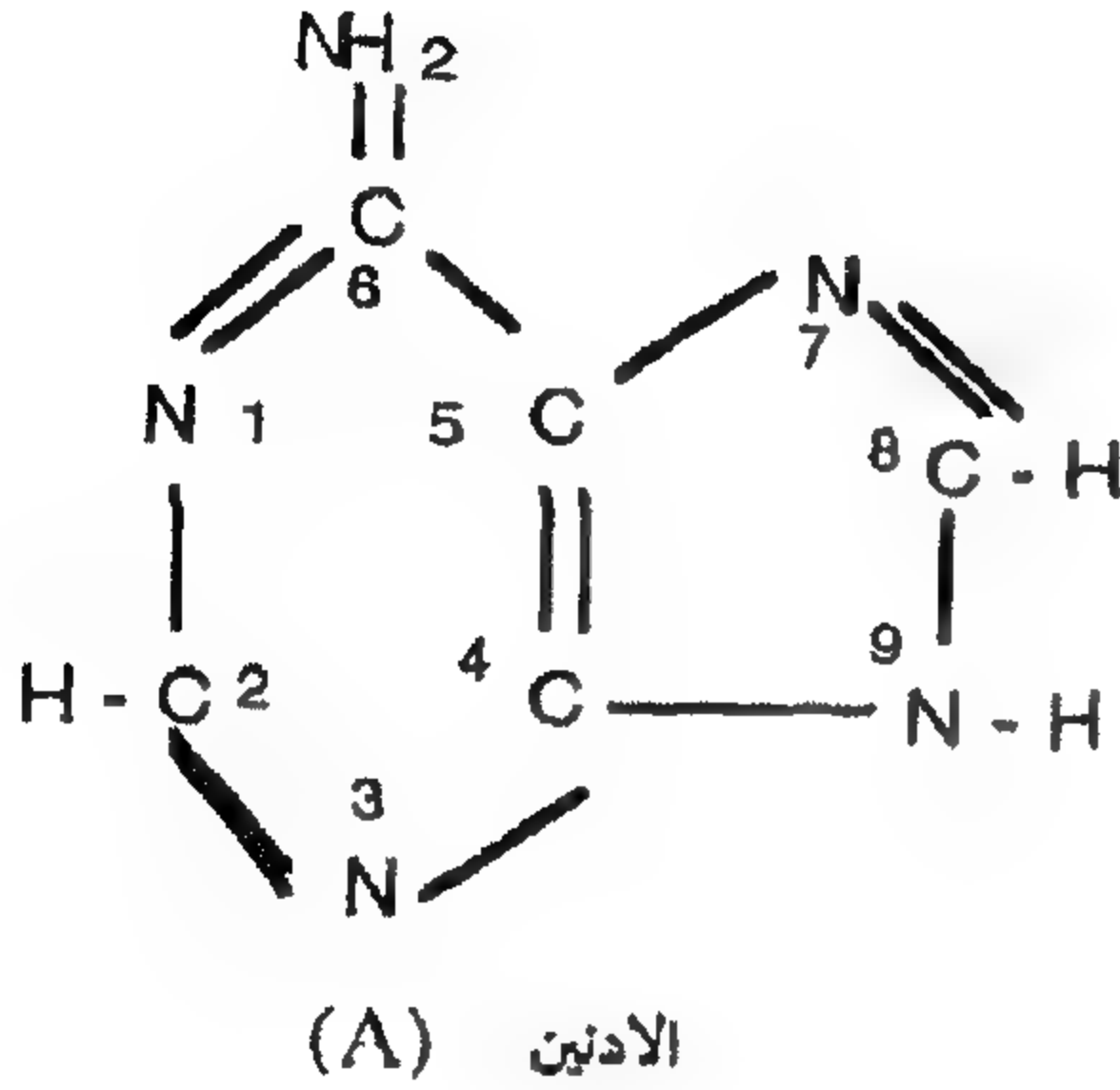
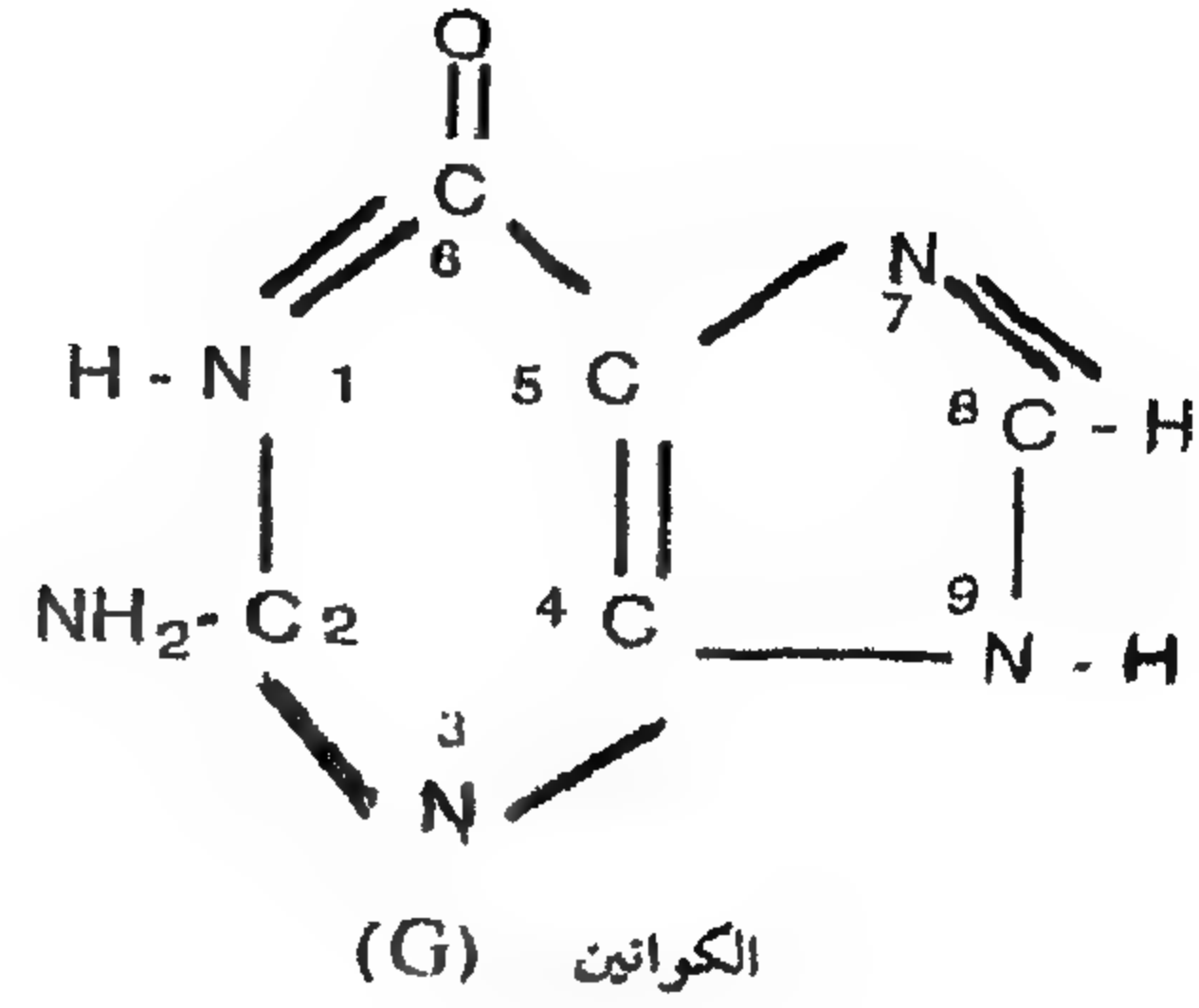
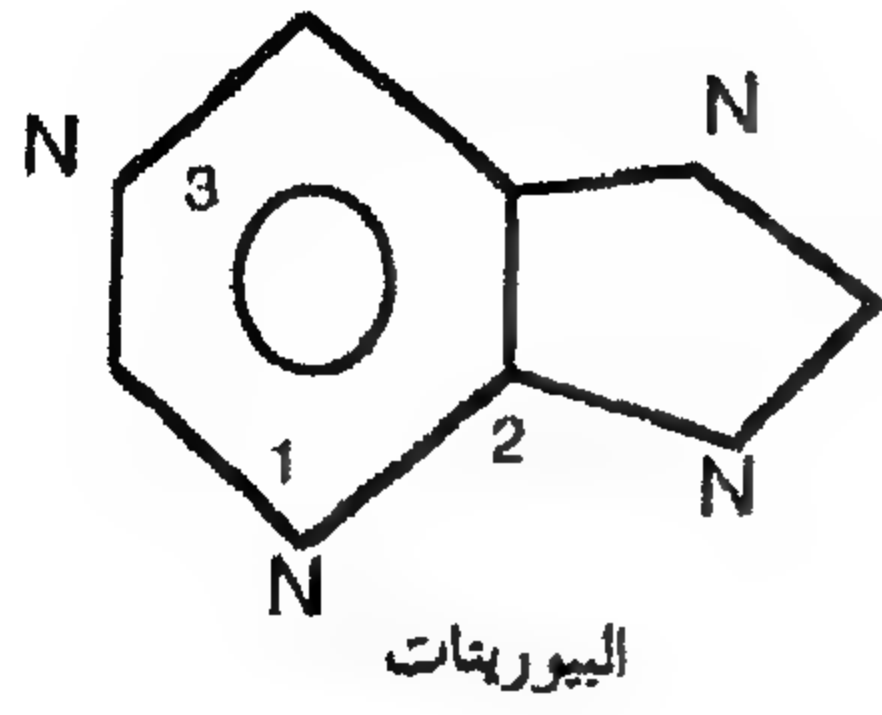


اليوراسيل Uracil



اما المجموعة الثانيه فيطلق عليها بالبيورينات **purines** وتتكون من حلقتين  
احدهما سداسية والاخرى خماسية **Heterocyclic** وتشتق منها الكوانين  
**Adenine** والادين **Guanine** .





وعند اتحاد السكر مع احدى القواعد التيروجينية تتكون النكليوزيد **nucleoside** وتعرف بالنكليوزيدات الرايبوزية منقوصة الاوكسجين بالنسبة الى **DNA** بينما تعرف بالنكليوزيدات الرايبوزية **Ribonucleosides** في الـ **RNA**.

قال **nucleosides** في الـ **DNA** هي دي اوكسي الثايميدين **Deoxy** **thymidine** والذي اوكس سيتدين **Deoxycytidine** تنتهي بالمقطع **(-dine)** بالنسبة للبريميدينات أما بالنسبة للبيورينات فينتهي بالمقطع **(-osine)** مثل الادينوسين **Adenosine** والكوانوسين **Guanosine** أما في **(RNA)** فهي السيتدين **cytidine** واليوريدين **uridine** والادينوسين والكوانوسين.

يرتبط السكر مع القاعدة التيروجينية بواسطة رابطة تساهمية كلايكوسيدية حيث

يرتبط الكربون رقم (١) في السكر مع النيتروجين رقم (١) في حالة البريميدينات كما في الشكل (٣-).

أما في حالة البيورينات فيحدث ان ترتبط ذرة الكربون رقم (١) في السكر مع ذرة النيتروجين في القاعدة رقم (٩).

تظهر مشتقات البريميدينات بانها تحتوي على الاوكسجين في الموقع (٤) على شكل كيتو keto - form ( $0=c<$ ) كما في حالة الثايمين واليوراسيل اما في حالة السايروسين فانه يمتلك في الموقع (٤) على مجموعة أمينية بدلاً من الكيتونية . ويختلف الثايمين واليوراسيل في أن الاول يمتلك على مجموعة الميثان ( $CH_3$ ) في الموقع (٥) وهكذا فان الاختلافات بين مشتقات البريميدينات يحصل في المواقع (٥) و(٤).

اما بالنسبة للبيورينات فان الادنين يحتوي عند المكان (٦) على المجموعة أمينية ( $NH_2$ ) بينما الكوانين يحتوي على مجموعة كيتونية ( $0=c<$ ) بنفس الموقع . ويحتوي على مجموعة أمينية في الموقع (٢) وبهذا تختلف مشتقات البيورينات في المواقع (٢) و(٦).

### استخلاص الـ DNA من الخلايا :-

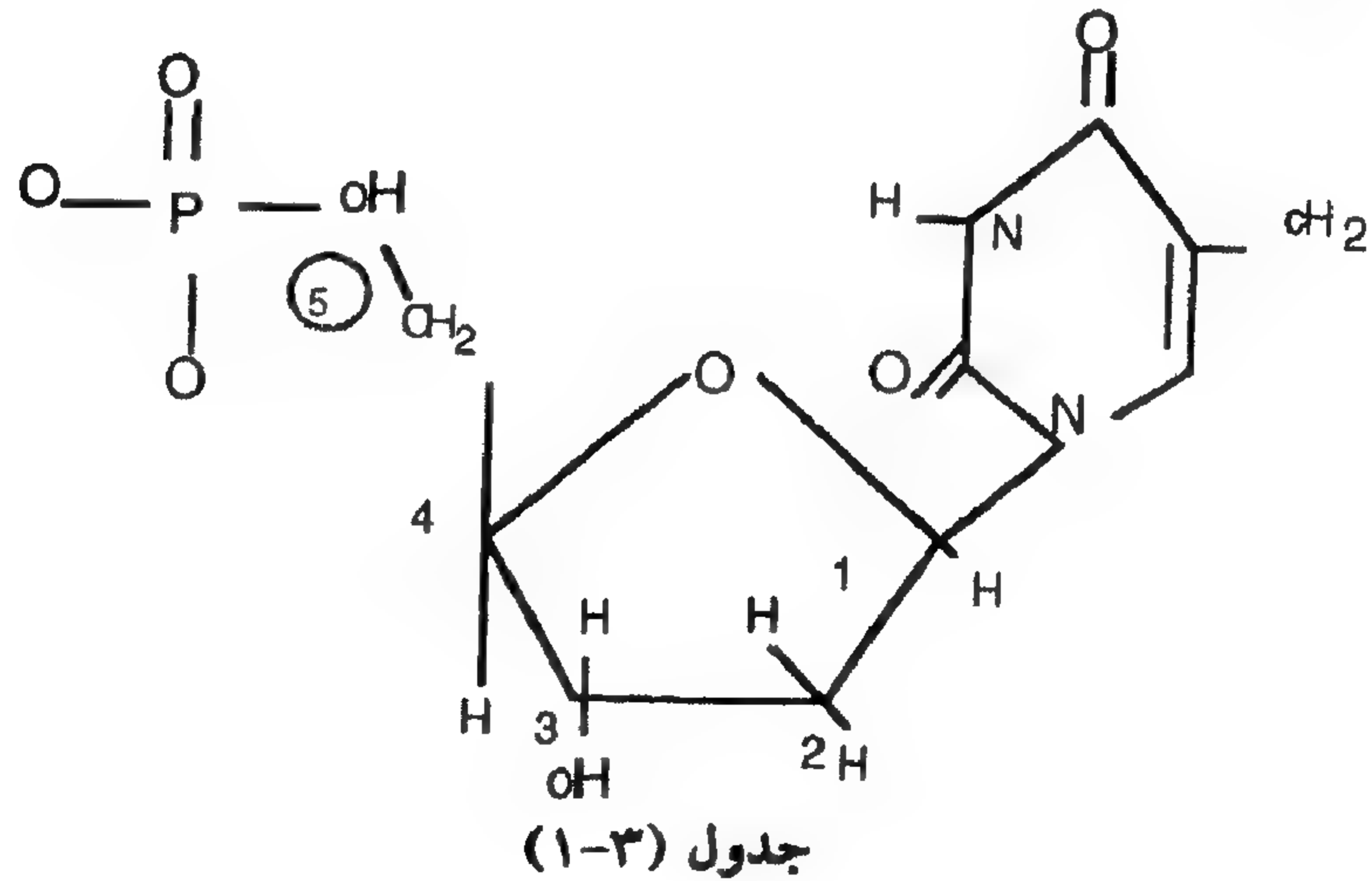
في البكتيريا يتم الاستخلاص بواسطة انزيم يدعى lysozyme أو استعمال المنظفات Detergent ( كما في الشكل ) وترسب الـ DNA بواسطة الكحول باضافته الى محلول البكتيريا ثم يدخل قضيب خشبي أو زجاجي داخل الانبوبة وعند تحريكه يلتف الحامض النووي على القضيب .

أما في خلايا حقيقية النواه (كالكبد مثلاً) فيتم الاستخلاص بسحق الخلايا في هاون خزفي مع قليل من الرمل الناعم بعد اضافة محلول NaCl يطرد مركزيا بعد

ذلك لمدة ١٥ دقيقة في ٢٥٠٠ دورة في الدقيقة يؤخذ السائل الصافي ويضاف له ستة اضعاف حجمه من الماء المقطر (يضاف السائل الصافي للماء تدريجياً) مع التحريك المستمر بواسطة قضيب زجاجي فيلاحظ التفاف خيوط الـ DNA عليه .  
يمكن الكشف عنه باستخدام الكاشف ثنائي فينيل أميني **Diphenylamine** ( $C_6H_5 - NH - C_6H_5$ ) الذي يعطي ناتج ذو لون أزرق .

### ج) مجموعة الفوسفات

ترتبط النيكليوسيدات مع مجموعة الفوسفات بوحدي سكر متجاورتين عن طريق رابطة فوسفاتية ثنائية الاستر **phosphodiester** . فتصل بين كربون (٣) من احدى حلقتي السكر كربون ٥ من الوحدة التالية اذ يتم التفاعل بين مجموعة هيدروكسيل في الكربون ٥ من السكر مع مجموعة فوسفات بعد فقدان جزيئة ماء وهي التي تعطي الخصائص الحامضية للجزيء .  
وتبنى على مجموعة الفوسفات مجموعة بها هيدروجين قابل للتأين وهذا ما يحدث في الظروف الاعتيادية والسائدة في الخلية .



### جدول (٣-١)

والجدول التالي يوضح النيكليوزيدات والنيكليوتيدات وأسمائها الخاصة :

القاعدة	نيكليوسيدات	نيكليوسيدات
في حالة DNA		
الادين	دي اوكسي ادينوسين	دي اوكسي ادينوليك اسيد
الثايمين	ثيميدين	ثايميديك اسيد
السيتوسين	دي اوكسي سيتدين	دي اوكسي سيتيدليك اسيد
الكوانين	دي اوكسي كوانوسين	دي اوكسي كوانيلك اسيد
في حالة RNA		
اليوراسيل	يوردين	يورديلك اسيد
الادين	ادينوسين	ادينلك اسيد
السيتوسين	سيتدين	سيتيدلك اسيد
الكوانين	كوانوسين	كوانيلك اسيد

ترتبط النيكليوتيدات مع بعضها بواسطة آصرة فوسفاتية ثنائية الاسترلتكوين  
عديد النيكليوتيدات Polynucleotides .

يحتوي الـ DNA على القاعدة النيتروجنية الثايمين (T) وفي الـ RNA بدلا عنه يحتوي على القاعدة ( اليوراسيل (U) ) وهذا يوضح لماذا يستخدم الثايمين مع النظر المشع بالنسبة لـ DNA واليوردين مع النظر المشع في حالة RNA عند دراسة تخليقها .

### البناء الهندسي للـ DNA

يختلف تركيب الحامض النووي DNA بالنسبة للكائنات الحية فقد يتألف من سلسلة مفردة في بعض الفيروسات مثل فايروس ١٧٤× والعائيات



(Bacteriophage) وهذه حالة بدائية وعندما تغزو هذه الفايروسات بعض الخلايا البكتيرية فانه يتضاعف في داخلها ويصبح مكونا من سلسلتين .  
وفي جميع الكائنات الحية الاخرى فإن الـ DNA يتكون من سلسلتين حلزونيتين (حلزون مزدوج) (الشكل (٣-)).

### الحلزون المزدوج : DNA-double helix

من المعروف ان الـ DNA يتكون من وحدات عديدة النيكلوتيدات وهو مؤلف هندسياً من سلسلتين بالتفاف حلزوني مزدوج . ولذلك فان له بنية ابتدائية مكونة من سلسلة واحدة فيها ترتبط الفوسفات مع السكر بالاتجاه (3'---->5') وبالاتجاه المعاكس ترتبط الفوسفات مع السكر بالاتجاه (5'---->3') وبسبب هذا الاختلاف فان سلسلة الـ DNA تدعى بالقطبية .

وتستخدم البنية الابتدائية هذه في عمليات الاستنساخ وعملية التضاعف . حيث تعمل احدى السلسلتين في عملية الاستنساخ في نسخ جزئي الـ RNA المطلوب لعملية الترجمة .

بينما تعمل سلسلة 1 كقالب في عملية التضاعف . ويوجد الحامض النووي DNA ذو السلسلة المفردة في بعض الفايروسات ( 174 × ) وبعض العاثيات . أما البنية الثانوية الـ DNA والتي فيها يتألف الـ DNA هندسياً من حلزون مزدوج كما في النموذج الذي اقترحه كلا من واطسن وكريك **watson and crick** عام ١٩٥٣ اللذين استندا في ذلك على دليلين هامين هما :

١- القواعد التي وضعها **chargaff** عام ١٩٥٠ ومساعديه عندما قاموا

بتحليل الـ DNA لعدد من الكائنات الحية والتي تنص على أن :

أ- ان كمية الثايمين (T) مساوية دائما لكمية الادنين (A)

- ب- كمية الكوانين (G) مساوية دائما لكمية الساييتوسين (c)  
 ج- ان كمية البيورينات مساوية في الكائن الحي لكمية البريميدينات وان النسبة بينهما مساوية إلى واحد بمعنى أن  $A + G / T + C = 1$

٢- المعلومات التي وجدها كلا من ويلكنسن وفرانكلين wilkins and franklin باستخدام الاشعة السينية X-ray crystallography عن تركيب ال DNA .

ومن هذه المعطيات اقترح واطسن وكريك التركيب اللولبي المزدوج والذي امكن بواسطته تفسير جميع الحقائق المعروفة ومن الخصائص التي يتصف بها ال DNA مايلي :

- ١- يتكون جزيء ال DNA من سلسلتين تلتفان حول محور Axis عام تسمح بالدوران من اليسار الى اليمين right-handed
- ٢- القواعد النيتروجينية مرتبة بحيث تكون مكملة complementary بعضها البعض ومتأصرة بواسطة روابط هيدروجينية فالادين يقابل الثايمين بواسطة آصرتين ويقابل الكوانين الساييتوسين بواسطة ثلاث آواصر .
- ٣- يشكل السكر والفوسفات دعامتي السلم بينما تشكل القواعد درجات السلم .
- ٤- الالتفاف يكون بشكل طيات تحتوي كلا منها على عشرة قواعد نثروجينية وتشكل كل طية حوالي ٣٤ انكستروم .
- ٥- يبلغ قطر جزيء ال DNA حوالي ٢٠ انكستروم .
- ٦- تساهم كل زوج من القواعد بحوالي ٣٦ درجة في دورة العشرة ازواج القواعد البالغة ٣٦٠ درجة .

٧- يحتوي جزيء الـ DNA على اثنى عشر احدودين احدهما كبير Major groove والآخر صغير Minor groove كما في الشكل ( ٣ - ).  
ويتم الارتباط بين القواعد النيتروجينية في جزيء الـ DNA وفقاً لعاملين اثنين هما :-

١- عامل هندسي :

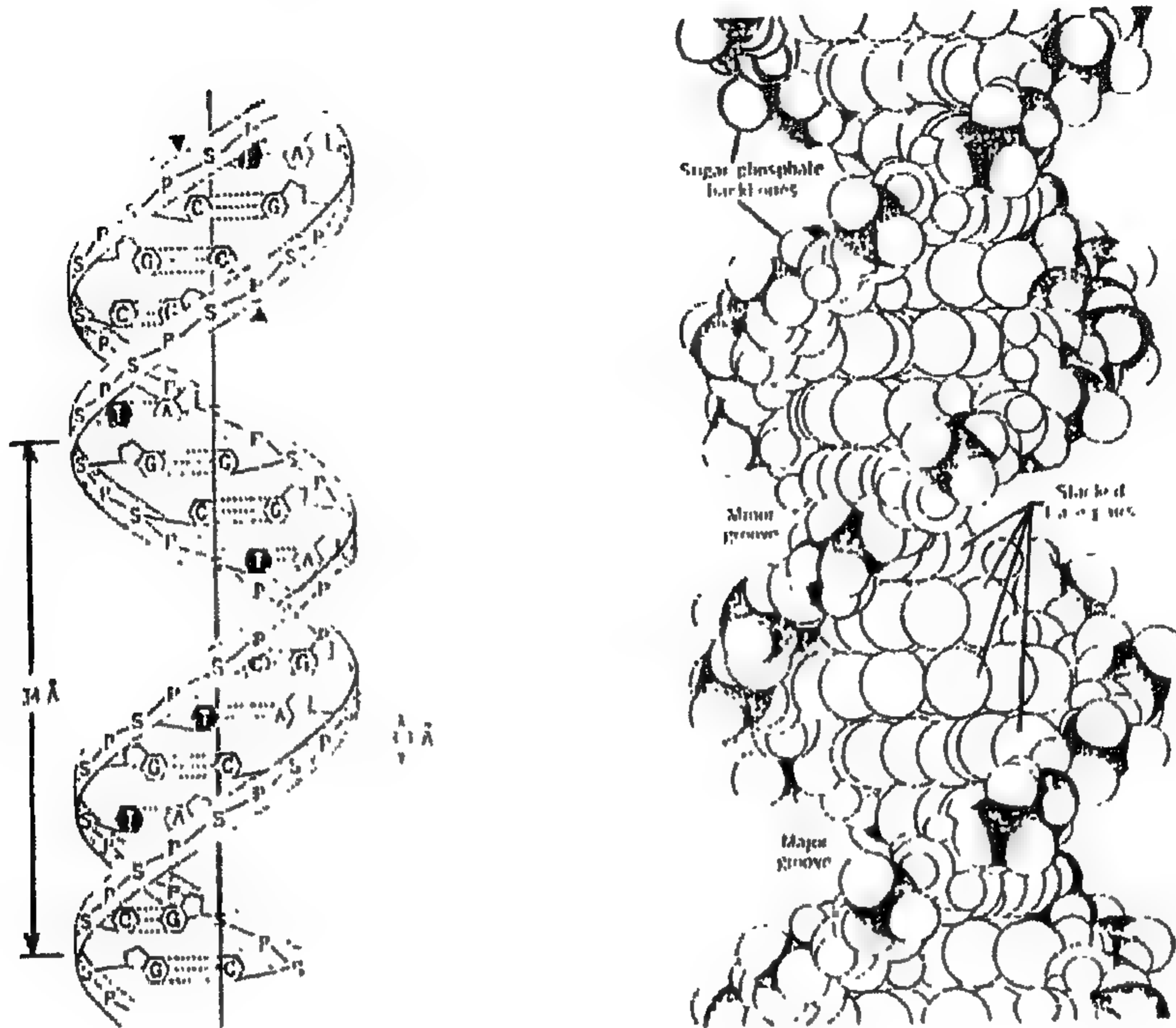
ويتمثل بطول الرابطة وهذا لا يتحقق الا بارتباط جزيء اليورين الكبير مع جزيء البريميدين الصغير فلو كان الارتباط بين جزيئات اليورينات لكانت الرابطة اكبر من المطلوب ولو كان الارتباط بين جزيئات البريميدينات الصغيرة فأن الرابطة تكون اصغر من المطلوب.

٢- عامل كيميائي :

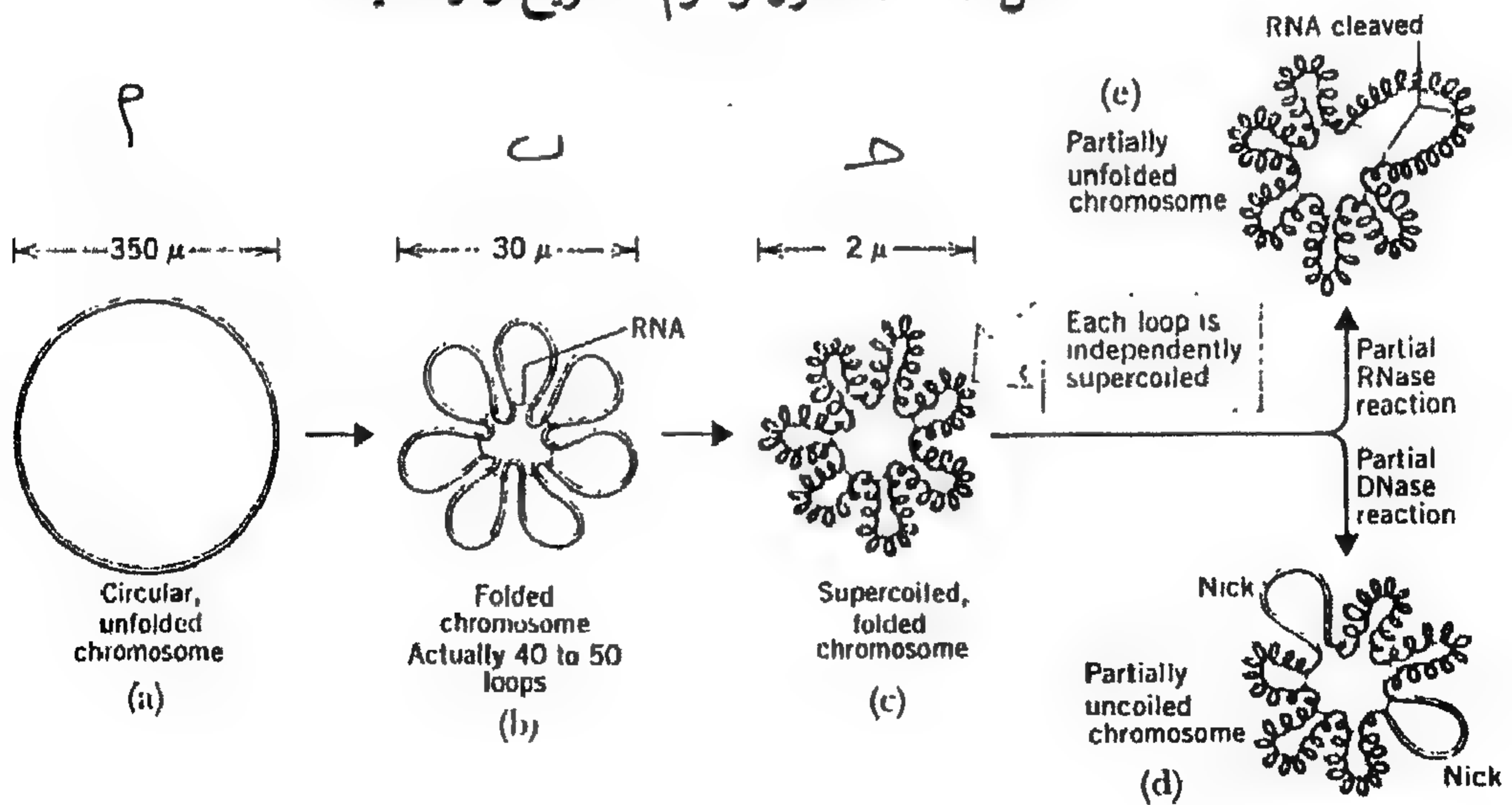
وفيه يتم ارتباط الازنين الحامل لمجموعة أمينية في الكربون ( رقم ٦ ) مع الثايمين الحامل لمجموعة كيتونية في الكربون ( رقم ٤ ) .  
وبهذا يتطابق مجموعة الامين مع المجموعة الكيتونية في الكربون ( رقم ) كشرط للارتباط .

كما يتطابق الكوانين مع السايكوسين بوجود مجموعة كيتونية في ذرة الكربون ( رقم ٦ ) في الكوانين تطابق مجموعة أمينية في الكربون ( ٤ ) من السايكوسين كما توجد مجموعة أمينية في ذرة كربون ( رقم ٢ ) في الكوانين تطابق مجموعة كيتونية في ذرة الكربون ( ٢ ) في السايكوسين وبهذا يرتبطان بثلاث روابط هيدروجينية بينما يرتبط (T) مع (A) برابطتين .

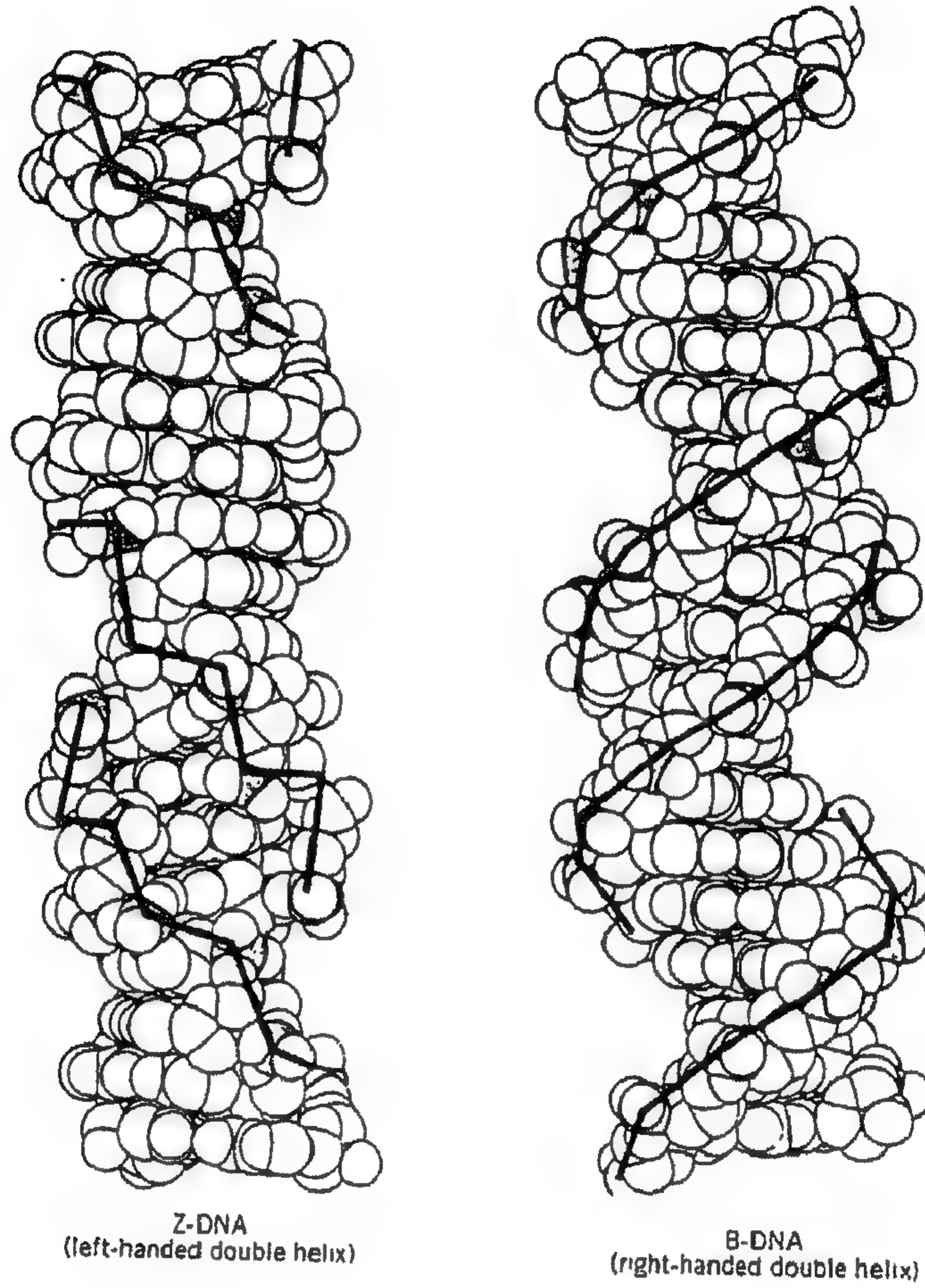
### شكل (١-٣) التركيب الحلزوني المزدوج الـ DNA



### شكل (٢-٣) الكروموسوم المستريح وذو الطيات







شكل (٣-٣) يبين تركيب الـ DNA اللف لليمين (شكل B) واللف لليسار (شكل Z)

**هيئة الحلزون المزدوج Double-helix conformation**  
 يوجد الحلزون المزدوج الـ DNA على عدة اشكال وهذه الاشكال ناتجة من التغيرات البيئية المحيطة:

١- الشكل B وهو الشكل الذي اقترحه واطسن وكريك الأنف الذكر. حيث تحتوي كل طية على ٠.٤٪ نيكليوتيد .

٢- الشكل A عند زيادة تركيز الاملاح بشكل عالي في البيئة يوجد الـ DNA بهذا الشكل وتتألف كل طية من ١١ نيكليوتيدة .

٣- الشكل C وفيه تكون كل طية مكونة من تسعة نيكليوتيدات ويطلق على الاشكال الثلاثة هذه بذات اللف اليميني **R hight handed** او اللف الموجب **positive coiling** .

٤- حديثا وجد شكل آخر من اشكال الـ DNA وهو ما يطلق عليه الشكل Z واللف يكون يساري **left-hand** والحرف Z يأتي من كلمة **zigzag** (المتعرج بالنسبة لترتيب العمود الفقري من السكر والفوسفات المتعرجة ) ويحصل هذا عندما تكون تركيز الاملاح في البيئة المحيطة عالية . ان الاختلافات التركيبية في جزئيات الـ DNA تلعب دوراً هاماً من النواحي البيولوجية .

يتخذ الحامض النووي DNA اشكالا مختلفة تبعاً لنوع الكائن الحي وكما يلي : **DNA- shape**

١- الخطي ذو الشريط المفرد .

ويتكون من سلسلة مفردة من النيوكليوتيدات ذات نهايتين (٣) و (٥) ويمكن أن يكون شريطاً دائرياً بواسطة الانزيم الرابط الـ **ligase**

٢- الخطي ذو الشريط المزدوج .

ويوجد في الفيروسات والعائيات وبكتريا القولون وفي بعض عضيات الخلية مثل الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء .

يتكون هذا النوع من سلسلتين متضادتين في الاتجاه يتم بعضهما بعضاً ويمكن بواسطة الانزيم الرابط **Ligase** أن تلتحم النهايتين (٣) و (٥) لتكوين الشكل الدائري المزدوج المغلق .

### ٣- الدائري المزدوج فائق اللف

وفيه يلتف الحامض النووي DNA الدائري المزدوج المغلق لفاً ثانوياً ويمكن ان يلتف لفاً ثالثاً فيتكون من ذلك حلزون فائق اللف **super coiled helices** الذي يتصف بكثافة عالية ويكون اللف موجب في الحلزون اليميني او سالب في الحلزون باتجاه اليسار.

### تغير طبيعة الحامض النووي DNA الدنترة Denaturation of DNA

يعاني الحامض النووي DNA تغيراً في طبيعته كما هو الحال في البروتينات ويتحول ال DNA من الشكل الحلزوني الفعال إلى الحامض النووي العادي غير الفعال .

ومن العوامل التي تعمل على تغير في طبيعة ال DNA هي العوامل الكيميائية مثل الاحماض والقواعد واليوريا والفورمالديهايد وعوامل فيزيائية كارتفاع درجات الحرارة والتي تقلل من صلابه الحلزون ان التغير في طبيعة ال DNA كالكثافة واللزوجة واطياف الامتصاص ويرافق عملية التغير هذه زيادة في الكثافة الضوئية **(O.D) Optical Density** للحامض النووي والسبب يعود إلى انفصال الشريطين عن بعضهما وبالتالي زيادة تركيز المادة التي تسبب زيادة في الكثافة الضوئية .

ويمكن فصل الشريطين بواسطة الحرارة وتسمى هذه العملية بالانصهار **melting** ويمكن تتبعها بالقياس بواسطة جهاز الطيف الضوئي عند طول موجة (٢٦٠ نانومتر) وعادة يكون تكسير ازواج القواعد النيتروجينية (G-C) يحتاج إلى حرارة أعلى من تكسير القواعد (A-T) وذلك لان الأولى ذات ثلاث روابط هيدروجينية ونقطة الانصهار **melting point** تعتمد على النسبة . GCAT

ويمكن إعادة ال DNA إلى طبيعته الأصلية بواسطة التبريد البطيء أو درجة الحموضة الواطئة (PH).

وتسمى هذه العملية بالـ Renaturation وهي عملية مهمة في دراسة علم الأحياء الجزيئي في عمليات التهجين Hybridization بين ال DNA لنوعين من الكائنات الحية . كما انها تستخدم للتهجين مع ال RNA لمعرفة أي جزء من ال DNA يستعمل كقالب Template لأنواع ال RNA .

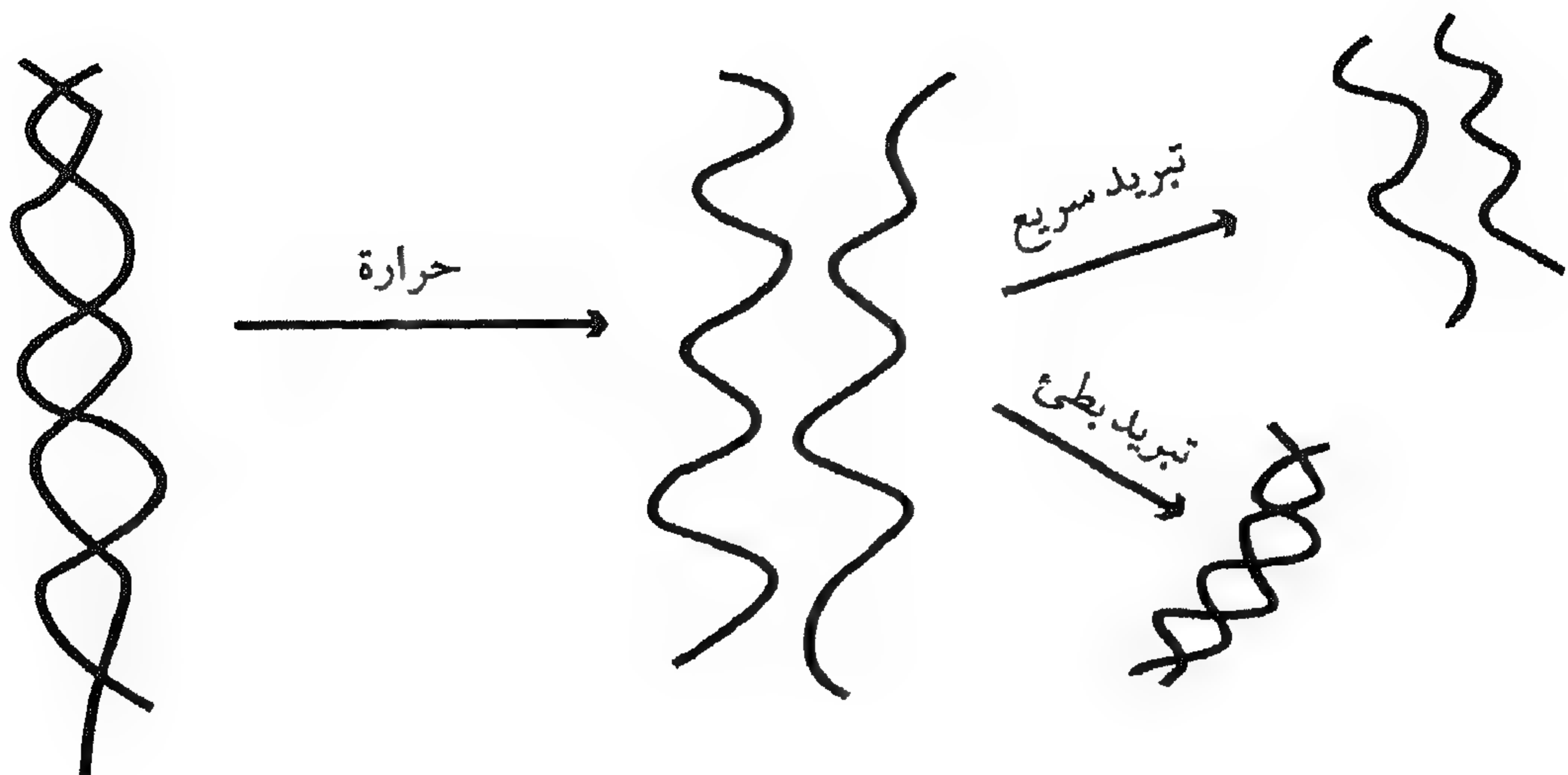
وتستعمل عمليات التهجين في كثير من الدراسات التطبيقية مثل

أ- تعيين الطفرات الوراثية الحاصلة عن طريق الاضافة لنكيتيد واحد أو اكثر حيث تتغير الشفرة الوراثية للمعلومات في ال m-RNA وبالتالي يتغير البروتين المبرمج عند تكوينه .

ب- تعيين الطفرات الوراثية الحاصلة عن طريق النقصان لاحد النيكلوتيدات أو أكثر حيث يتسبب تغيير في الشفرة الوراثية ومن ثم تغيير في البروتين المتكون .

ج- التوافق الوراثي بين الانواع أو الضروب strains وتستخدم لهذا الغرض طريقة ساوثرن southern وذلك بثيث شريط ال DNA على ورق ترشيح نايتروسليلوزي ثم اضافة اشربة موسومة بنظير الهيدروجين <sup>3</sup> (تريتيوم H3) بالثايمين (T) ورؤية المناطق غير المهجنة والتي تتصف بتكوين انبعاجات عن طريق المجهر الالكتروني .





شكل ( - ) يوضح إنصهار الدنا وإعادة اتحاد الشريطين

**الحامض النووي الرايبوزي (Ribonucleic Acid (RNA**  
 تحتوي كل خلية على ثلاثة أنواع من الحامض النووي الرايبوزي RNA وهي  
 مختلفة من حيث التركيب والوظيفة وهي :  
**الناقل t- RNA (transfer)**  
**الرسولي m-RNA (messenger)**  
**الرايبوسومي r-RNA (ribosomal)**  
 يختلف الـ RNA عن الحامض النووي DNA ببعض الخصائص الهامة  
 وهي :

- ١- يتألف من سلسلة مفردة مستقيمة من الجزيئات .
- ٢- القواعد النيتروجينية هي الأدينين والكوانين والسيتوسين واليوراسيل (بدلاً من الثايمين) .
- ٣- السكر الموجود في الـ RNA هو الرايبوز ( خماسي ذرات الكربون ) .

- ٤- لا تتبع جزئيات الـ RNA الى قواعد جاركاف **chargaff**
- ٥- ترتبط النيكلوتيدات ببعضها بروابط فوسفوثنائية الاستر **phospho-diester** في الموقع (3) مع الموقع (5) وبذلك يعتبر الـ RNA جزئى بوليمر **polymer**.

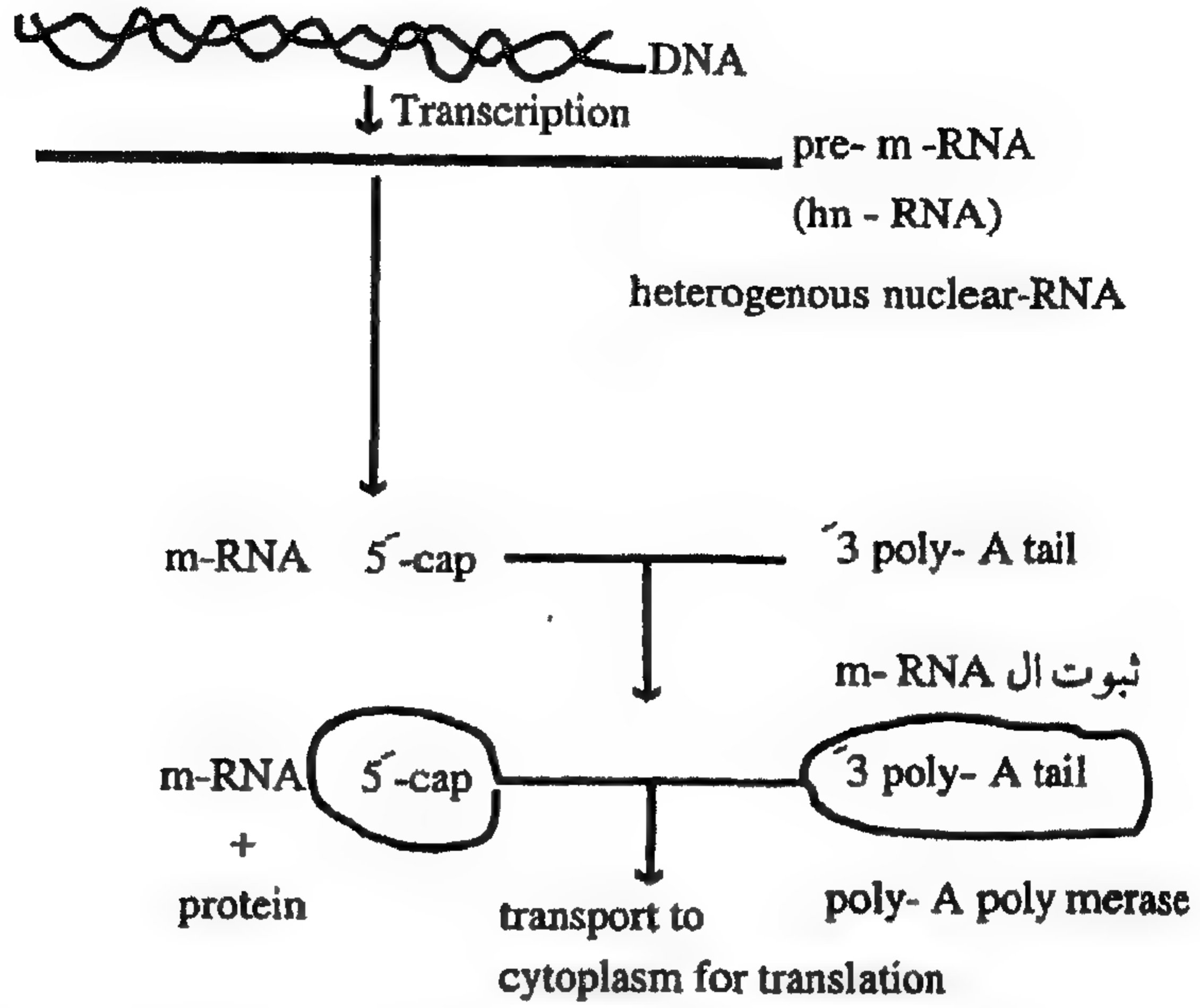
### التنظيم الهندسي :-

#### ١- الرنا الناقل : **t-RNA**

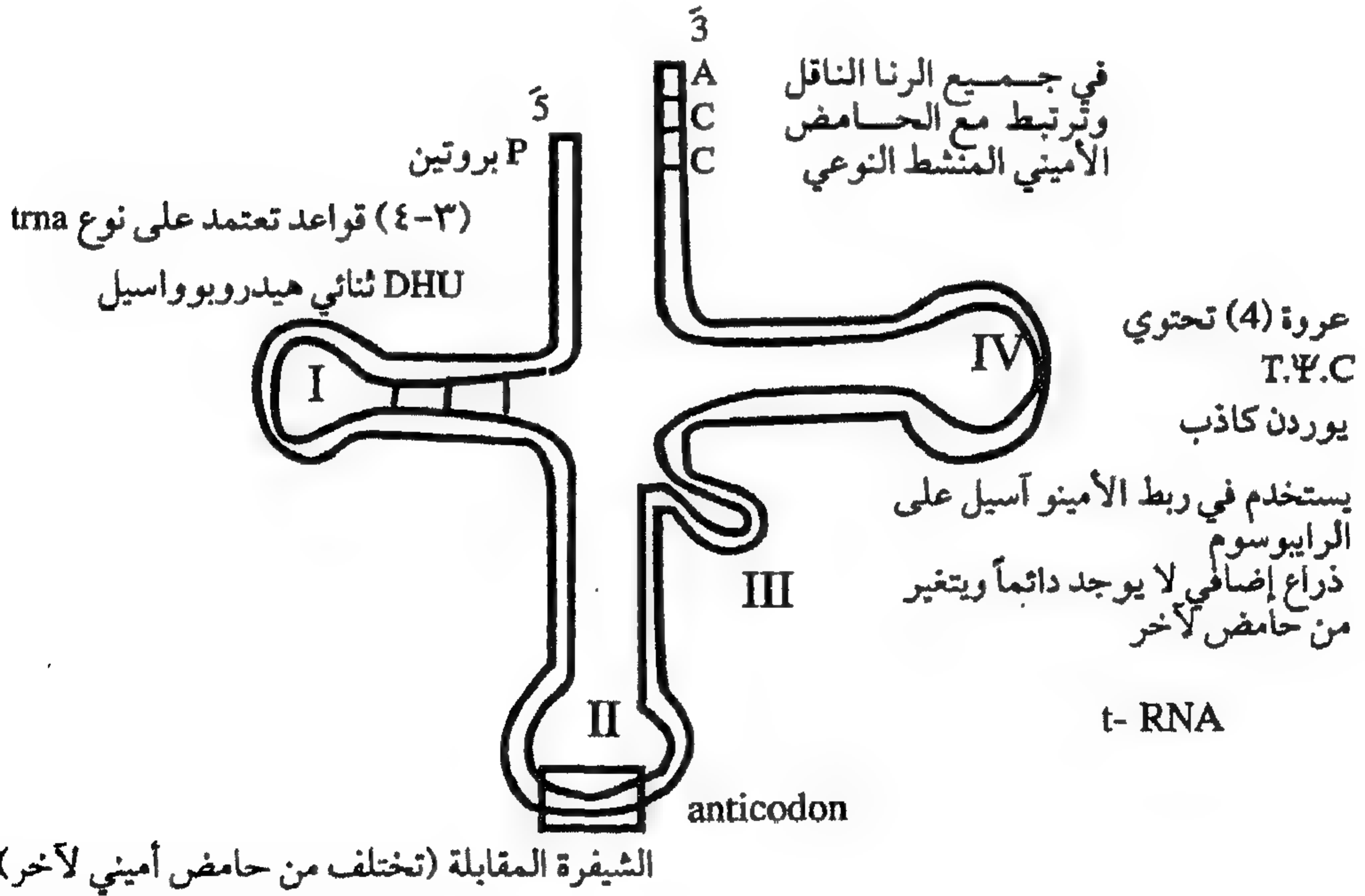
يتألف الرنا الناقل من سلسلة قصيرة تحتوي على ٧٥-٩٠ نيكلوتيدة ويبلغ وزنه الجزيئي حوالي ٢٥٠٠٠ دالتون ويشكل حوالي ١٥٪ من كمية الرنا الموجودة في الخلية ويوجد اكثر من ٢٠ نوع وقد تمكن **Holley** هوللي عام ١٩٦٥ ومساعديه من معرفة تتالي نيكلوتيدات الرنا الناقل للأولين في الخميرة ، ويبلغ نصف العمر للرنا الناقل في الخلايا حقيقية النواة حوالي ٦٠ ساعة .

قد اوضحت الدراسات باستخدام انكسار الاشعة السينية الشكل الفراغي للرنا ثلاثي الابعاد .

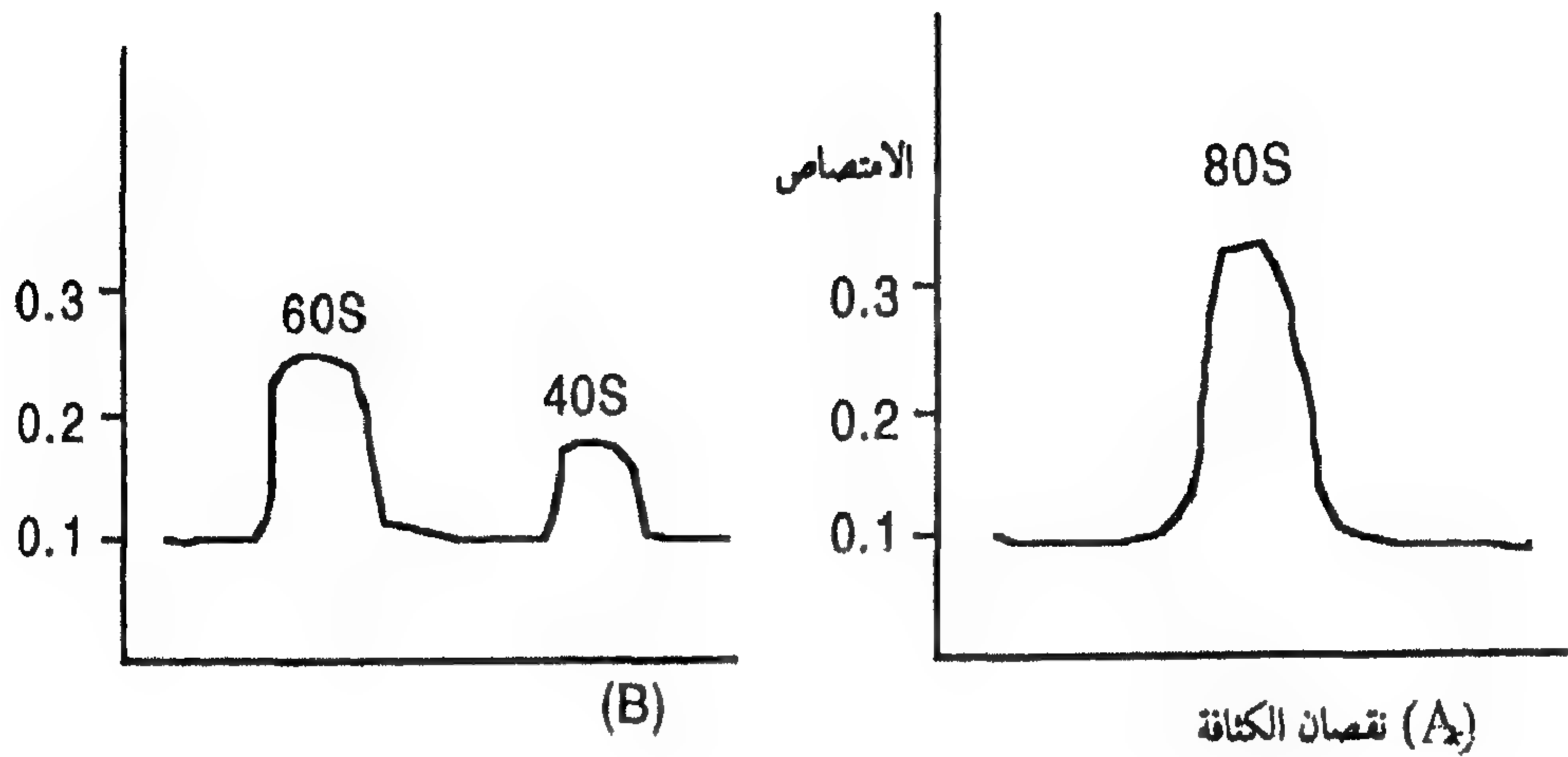
كما وجد عدد من الباحثين ان الرنا الناقل يتألف من سلسلة قصيرة منطوية حول نفسها لتشكل ثلاثة الى اربعة عرى وذراع تعتمد على نوع وعدد وتتابع النيكلوتيدات مشكلة تركيب يشبه ورقة البرسيم **cloverleaf** هناك عدد من الخصائص التي تميز هذا الشكل وهي :



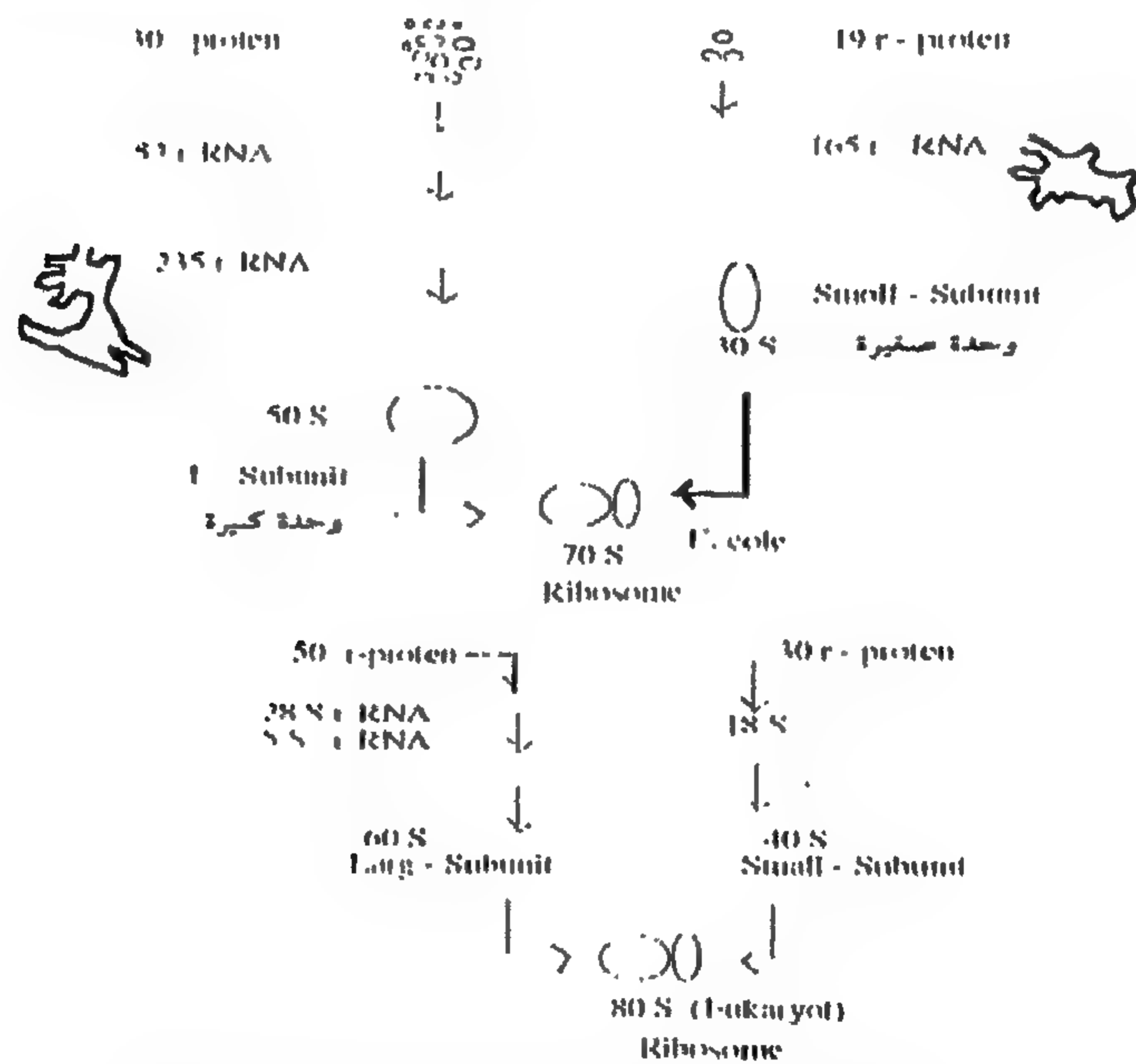
الشكل (٣-٤) يوضح استنساخ الـ m-RNA ومعالجته في حقيقية النواة



الشكل (٣-٥) يوضح بناء الرنا الناقل



شكل (٦-٣) الطرد المركزي لرايوسومات في بادرات البازليا (80S) (A) وعند سحب أيون  $Mg^{++}$  تتكون الوحدات 60S و 40S  
r-RNA



شكل (٧-٣) الرايوسوم في حقيقة النواة



١ - النهاية (3) تحمل في نهايتها على التوالي C-C-A وهي مميزة لكل انواع الرنا الناقل .

٢ - العروة الاولى وتعرف باسم عروة ثنائي هيدروبوراسيل DHU (تعتمد على نوع RNA - t) .

٣ - العروة الثانية وهي عروة الشفرة المقابلة anticodon تحتوي على triplate ( ثلاثية ) تختلف من حامض الى آخر وتقابل الشفرة المناسبة له في قالب الرنا الرسولي لكي يوضع الحامض الاميني المنشط في المكان المبرمج له وراثياً في سلسلة البروتين .

هناك ذراع رقم III كما في الشكل ( ٤ - ) وهذا لا يوجد دائماً ويتغير كذلك من حامض الى آخر .

٤ - العروة الثالثة ( رقم IV )

والتي تحتوي على الشميدين - يوردين الكاذب - السيتوسين ( T&C ) تستخدم في ربط الامينو آسيل الرنا الناقل على جسيمة الرايوسوم .

ومن الجدير بالذكر فان لكل رنا ناقل جين نوعي في بدائية وحقيقية النواة . تعمل الانواع المختلفة من الرنا الناقل على ترجمة المعلومات الوراثية المحمولة على m - RNA الى احماض أمينية في سلسلة الببتايد .

ب - الرنا الرسولي : m - RNA

يتألف جزء الرنا الرسولي من سلسلة مفردة وزنه الجزيئي حوالي ٥٠٠,٠٠٠ وهو متغير من ناحية الحجم والثبات ويشكل حوالي ٥٪ من كمية الرنا الموجودة في الخلية وهو الحامل للمعلومات السوراثية من جزيء الـ DNA الى الرايوسومات التي تحصل عليها عملية تصنيع البروتين ويشكل معها ما يعرف بالجسيمات المتعددة polysomes في الساييتوبلازم (m - RNA + ribosomes) ويستنسخ

الـ m-RNA من الـ DNA وبالاتجاه (3' → 5') حيث نحصل الاطالة من النهاية (3') ويتصف جزئ الرنا الرسولي ببعض المزايا الكيميائية في خلايا حقيقية النواة اذ تحمل النهاية (5') قبة cap من الميثايل كوانوسين .

أما النهاية (3') فتحتوي على ذيل من متعدد الادنوسين Poly- adenosine (Poly-A) ومن الجدير بالذكر فان m-RNA المسؤول عن تخليق الهستونات ( بروتينات نووية) تكون خالية من الـ poly - A كما أن ليس جميع الـ m-RNA تحتوي تركيب القبة الشكل ( ) .

#### ج - الرنا الرايبوسومي : ribosomal - RNA (r RNA)

يشكل الرنا الرايبوسومي حوالي ٧٥ - ٨٠٪ من كمية الرنا في الخلية ووزنه الجزيئي يبلغ بضع ملايين .

ويمكن تمييز ثلاثة انماط من الرنا الرايبوسومي خفيفة ومتوسطة وثقيلة .

ومن المعروف ان الرنا الرايبوسومي يرافقه دائما بروتين تركيب في تكوين الرايبوسومات حيث يشكل حوالي ٦٠ - ٦٥٪ بينما يشكل البروتين حوالي ٣٥ - ٤٠٪ . فالرايبوسوم في بدائية النواة يتكون من وحدتين ثانويتين لها معامل ترسيب

وحدة (70s) سفيدبرك (30s & 50s svedberg unit)

فالوحدة الكبيرة 50s تتكون من وحدتين 23s & 5s وسلسلة بيتيدية من حوالي ٣٠ بينما الوحدة الصغيرة تتكون من 16s وحوالي ٢٠ وحدة بيتيدية . وذلك لان حجمها 70s .

ويتمثل الـ rRNA بشكل سلسلة مفردة منطقية بشكل غير منتظم . والرايبوسومات في الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء تماثل رايبوسومات خلايا بدائية النواة .

أما الرايوسومات في خلايا حقيقية النواة فتتكون من وحدات 40s & 60s لان حجمها يبلغ 80s فالجسيمة 60s تتكون من 5s & 28s واكثر من 50' جزئية من متعدد الببستاييد . بينما الـ 40s يحتوي على 18s من الـ rRNA واكثر من 30' وحدة متعدد الببستاييد في الوحدة الصغيرة . وفي حقيقية النواة (Eucaryot) يحتوي كل رايوسوم على موقعين لارتباط الـ tRNA عليها وهما :

A-site وهو موقع الـ aminoacyl - tRNA الذي يحمل الحامض الاميني p-site او peptidyl site الذي يرتبط الـ tRNA على عديد الببتيدات النامية .

## **الفصل الرابع**

### **التركيب الكيميائي والجزيئي للكروموسومات**





## التركيب الكروموسومي لحقيقة النواة

### Eukaryote chromosome

#### The cell - cycle الدورة الخلوية

##### أ - في حقيقة النواة Eukaryotic

تنقسم الدورة الخلوية في حقيقة النواة الى ثلاثة مراحل هي :

##### ١ - المرحلة البينية Interphase

##### ٢ - مرحلة الانقسام الخيطي (انقسام النواة) Mitosis

##### ٣ - مرحلة انقسام الخلية Cell Division

فالمرحلة البينية تتميز بتعاقب العديد من الحوادث حيث تحصل فيها زيادة حجم الخلية والكتلة الجافة .

وتتوقف الفترة الزمنية لاكمالها على العديد من العوامل منها العوامل الغذائية ، ودرجات الحرارة ونوع النسيج وغيرها من العوامل وتتراوح الفترة الزمنية لأتمامها بين ٣ ساعات الى ١٧٤ ساعة حسب نوع الكائن الحي .

وقد وجد في انواع من الانسجة البشرية ان الفترة الزمنية اللازمة لتراوح بين ١٨ - ٢٤ ساعة وتتضمن المرحلة البينية على :

##### ١ - المرحلة البينية الاولى (مرحلة النمو الاولى ) Gap - 1 وفيها تتم عملية

تخليق الحامض النووي الرايبوزي RNA والبروتين وبشكل خاص :

أ - الانزيمات الخاصة بعملية تضاعف الـ DNA في المرحلة اللاحقة .

ب - البروتينات التي تعمل على الانقسام النووي .

ج - بروتينات جهاز الانقسام الخيطي والبنيات الدقيقة .

وقد تكون قصيرة خاصة في الخلايا الجينية للثدييات والاشكال الواطنه مثل  
الفطريات المخاطية والخمائر . من ناحية أخرى فانها تكون طويلة حوالي ١٥٠ ساعة  
في جذور الذرة الناضجة .  
أما في الخلايا المتميزة والتي لا تنقسم مثل الخلايا العصبية فيطلق عليها  
بالمرحلة الصفريّة (G0) .

## ٢- مرحلة البناء للـ DNA (DNA-Duplication)

وفيها تحدث عملية تضاعف للحامض النووي DNA والبروتينات النووية  
(الهستونات ) وفي نهايتها ينقسم كل كروموسوم إلى كروماتيدين وتندوم الفترة هذه  
حوالي ٣٥-٤٥٪ من المرحلة البينية وفي مزارع الخلايا البشرية تستغرق بين ٦ - ٨  
ساعات.

## ٣- المرحلة البينية الثانية ( مرحلة النمو الثانية ) Gap-2

وفيها تستمر عمليات بناء البروتين والحامض النووي الرايبوزي ( وبشكل أقل  
من المرحلة الأولى) كما أن الـ DNA الجديد يتحد مع البروتينات الخاصة  
بالكروموسومات . وتشغل حوالي ١٠-٢٠٪ من المرحلة البينية.

وبعد اكتمال الفترة الفاصلة الثانية تدخل الخلية في مرحلة الانقسام النووي  
Mitosis والتي تضم أربعة اطوار هي الطور التمهيدي prophase و طور  
تكوين المغزل Metaphase .

والطور الانفصالي Anaphase والطور النهائي Telophase و التي  
بعدها تدخل الخلية في مرحلة الانقسام الساييتوبلازم الخلوي cytokinesis  
(الشكل ١-٥) .

## ب- في بدائية النواة prokaryotic

تعتمد الدورة الخلوية في بدائية النواة على الظروف الغذائية ، ففي حالة

الظروف الغذائية المثلى **optimal** فان تضاعف الـ **DNA** يشغل كامل الفترة بين الانقسامين ولكن في حالة الظروف تحت المثلى **suboptimal** فان مرحلة تخليق الـ **DNA** تشغل فترة مساوية للفترة تحت الظروف المثلى الا أن عملية النمو تستمر الى ان يتضاعف حجم الخلايا عند ذلك تنقسم الخلايا . ان جزئيات الـ **DNA** المتضاعفة تنفصل من دون تكوين المغزل .

### الكروماتين **chromatine**

يتألف الكروماتين من حلزون مزدوج طويل من الـ **DNA** بالإضافة إلى البروتينات القاعدية التي تدعى بالهستونات والحمضية التي تسمى باللاهستونات . يوجد نوعان من الكروماتين هما :-

أ- الكروماتين الحقيقي **Euchromatine** ويكون على شكل خيوط رفيعة غير ملتفة ويكون فاتح اللون عند صبغه وهو الجزء الفعال من الناحية الوراثية . لا يحتوي على البروتينات الحمضية ( **nonhistones** ) .

ب- الكروماتين المتغير **Heterochromatine** ويكون كثير الطيات ويصطبغ بشدة بالصبغات القاعدية وهو غير فعال من الناحية الوراثية . ويمكن رؤيته بسهولة تحت المجهر الضوئي ويوجد في منطقة السنتروير والقطع الطرفية من الكروموسومات وفي منطقة تنظيم النوية . ومن المعروف ان الكروماتين المتغير لا يستنسخ في المرحلة البينية كما هي الحال للكروماتين الحقيقي في الـ **RNA** (ويحتوي كيميائيا على البروتينات الالهستونية) . وهناك نوع من الكروماتين المتغير هو الاختياري **facultative** الذي يوجد في كروموسومات الانثوية (X) البشرية .

كما أن المناطق متغيرة الكروماتين تحتوي على مناطق غير جينية من الحامض النووي **DNA** وهذه تتضمن **Repetitive-DNA** أو **(satellite-DNA)** ويعتقد انها تقوم بالوظائف التالية :



- ١- لها دور في تنظيم تركيب الكروموسومات .
- ٢- لازمة في تزاوج الكروموسوم خلال عملية الانقسام الاختزالي .
- ٣- ضرورية في عملية العبور **crossing over** وتبادل الاجزاء **Recombination** .
- ٤- حماية الجينات التركيبية مثل الهستونات **r-RNA** وجينات البروتين الرايوسومية .

### التركيب الكروموسومي في حقيقية النواة

#### **Euchromosome structure**

تركز معظم مادة الـ **DNA** في حقيقية النواة في الكروموسومات المتواجدة داخل النواة وقد بينت الدراسات على الانوية المعزولة ان المادة الرئيسية المكونة لها هي الكروماتين وهو المادة الرئيسية للكروموسومات ومنها جاء الاسم .

كما توجد مادة الـ **DNA** في جسيمات الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء (في الخلايا النباتية ) وهو يشبه كروموسومات بدائية النواة (مثل البكتيريا) حيث يتألف من حلزون مزدوج للـ **DNA** ويكون خالي من البروتينات ويكون مسؤول عن بعض الفعاليات الحيوية لهذه العضيات .

والكروموسومات عبارة عن اجسام خيطية دقيقة تظهر خلال الانقسام المتوزي (الخيطي ) بعد تلوينها كما تظهر تحت المجهر متباين الاطوار **phase-contrast microscope** داخل الخلايا الحية .

## المكونات الكيميائية للكروموسوم

### Chemical composition of chromosome

لقد تمكن من استخدام الطرق البايوكيميائية والبايوفيزيائية والمجهر الالكتروني من عزل الكروموسومات ومعرفة تركيبها الكيميائي .

تتركب الكروموسومات من الحامض النووي DNA والبروتينات الهستونية بشكل رئيسي ودائم بالإضافة الى بروتينات حامضية لا هستونية وقليل من الحامض الرايبوزي RNA .

تقسم البروتينات الكروموسومية الى نوعين هما :-

أ- البروتينات القاعدية والتي تسمى بالهستونات Histones وهي ذات شحنة موجبة عند نقطة التعادل للـ PH وتشكل مع الـ DNA السمة الاساسية لكروموسومات حقيقية النواة.

ب- البروتينات الحامضية غير الهستونية Non-Histones وهي ذات شحنة سالبة عند نقطة التعادل للـ PH وهي جزئيات عديدة وغير متجانسة شديدة الارتباط مع الدنا- هستون وهي بروتينات غير ثابتة بعكس الهستونات .  
وتقسم الهستونات إلى خمس انواع رئيسية بالاعتماد على محتواها من الاحماض الامينية اللايسين أو الارجنين .

١- الغنية باللايسين H<sub>1</sub>

٢- ذات درجة متوسطة من اللايسين H<sub>2</sub> a, H<sub>2</sub> b

٣- الغنية بالارجنين H<sub>2</sub> و H<sub>3</sub>

وتختلف في الوزن الجزيئي حيث يبلغ حوالي ٢١٠٠٠ للـ H<sub>1</sub>

بينما يبلغ ١١,٠٠٠ الـ H<sub>4</sub> كما انها تكون خالية من الحامض الأميني العطري

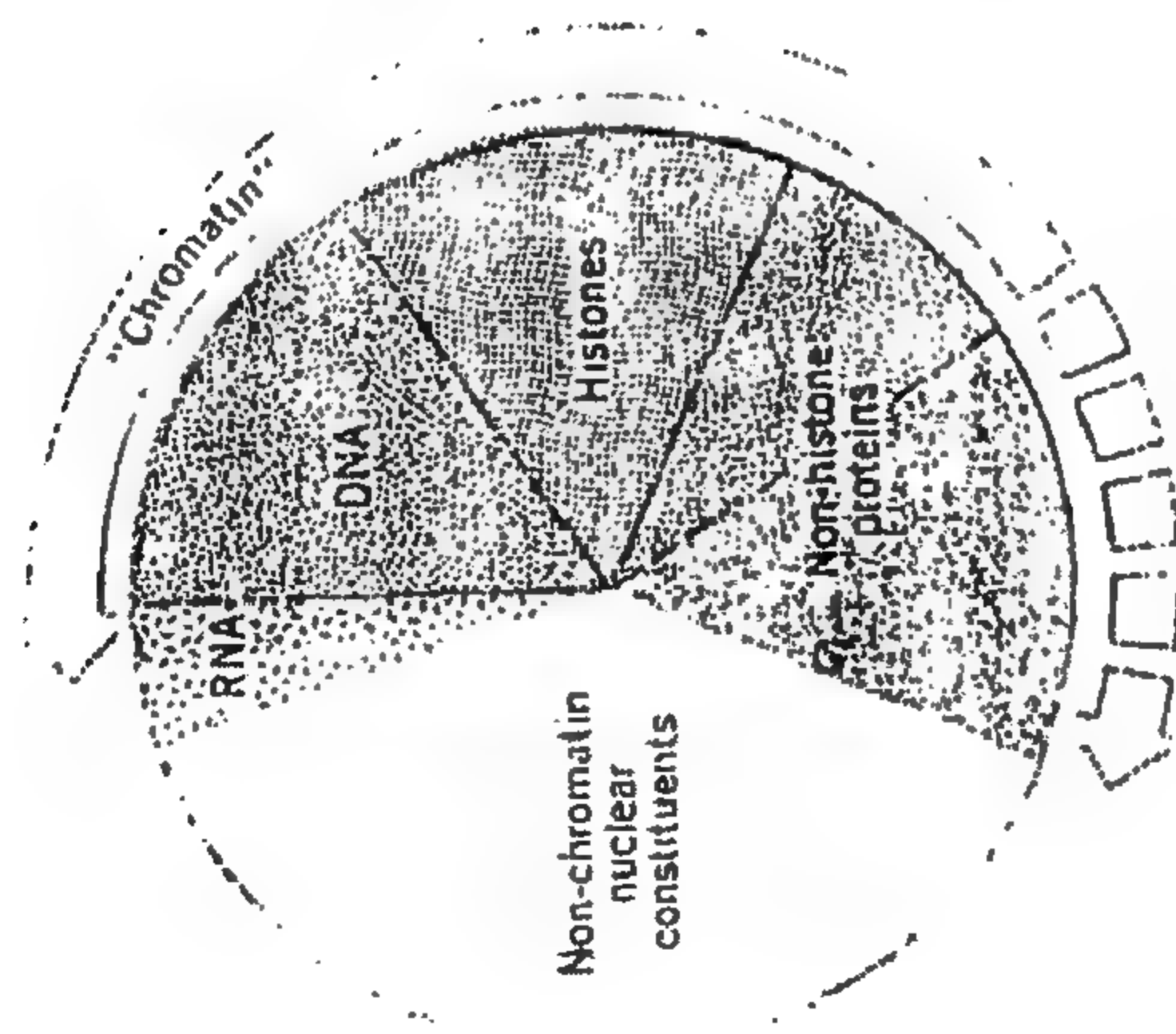
الترتوفان الذي يوجد في البروتينات اللاهستونية.

وتشكل الهستونات حوالي ٥٤٪ من بروتينات النواة في خلية الكبد . ان تضاعف الهستونات يصاحب عملية تضاعف الـ DNA فقط بينما يكون بناء البروتينات اللاهستونية مستمراً . يعتبر بعض الباحثين ان الهستونات ثابتة ومقاومة للتلف الحراري **heat - damage** وللازيمات **nucleases** .

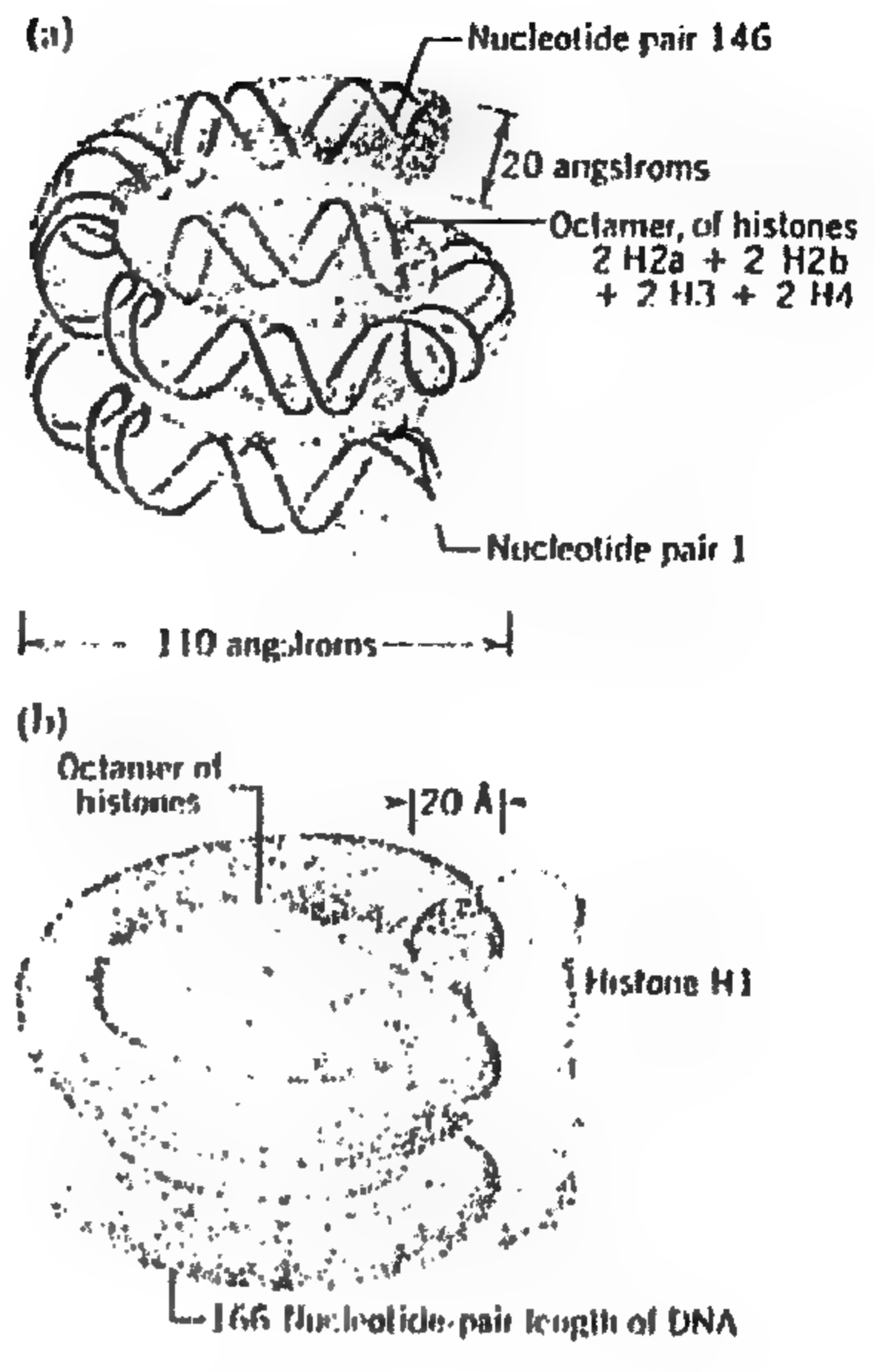
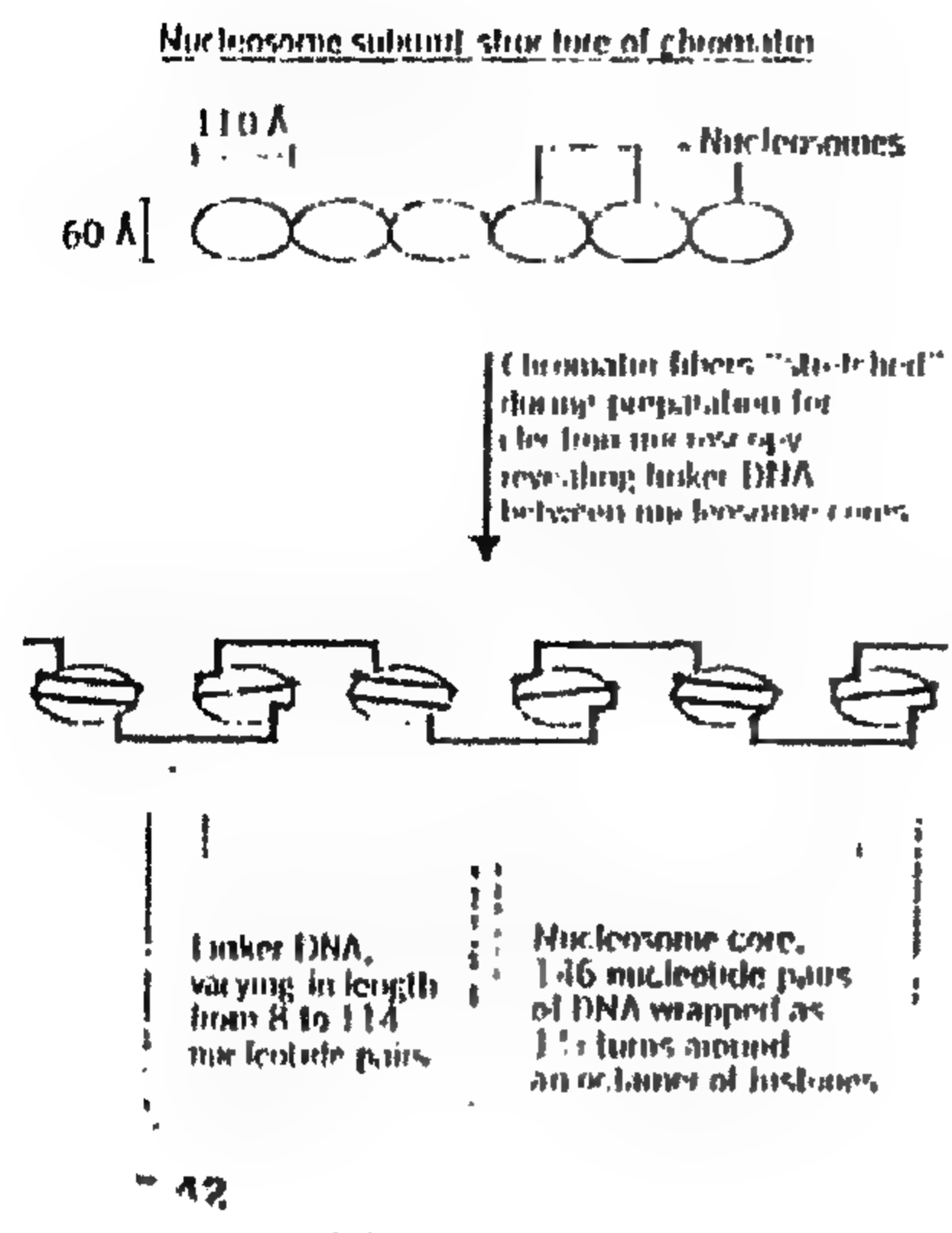
تلعب الهستونات دوراً هاماً في تركيب الكروموسومات وتؤدي بعض الفعاليات في التعبير الجيني **Gene expression** ، وبما انها تحتوي على شحنة موجبة فانها تكون معقدة مع المجموعة السالبة للفوسفات في الـ DNA كما ان وجودها يزيد من قطر الـ DNA من  $20\text{\AA}$  إلى  $35\text{\AA}$  كما تزيد من لف الـ DNA الذي يعمل على تثبيط الاستنساخ .

اما البروتينات غير الهستونية ( الحامضية ) فانها تلعب دوراً مهماً في تنظيم عمل الجينات في التنشيط والتثبيط . فهي تتضمن انزيمات التضاعف والنسخ حيث تسمح بعملية الاستنساخ مع الـ DNA فالوحدة الثانوية سيكما ( $\sigma$ ) للـ **m-RNA** المسؤولة عن تحفيز عملية الاستنساخ هي عبارة عن بروتين هستوني-مفسفر .

والهستونات تكون كهربائياً **poly cations** وهذا هام لتفاعلها مع الدنا **DNA** الذي يكون كهربائياً **poly anions** ويعود ذلك الى الشحنة السالبة لمجموعات الفوسفات .



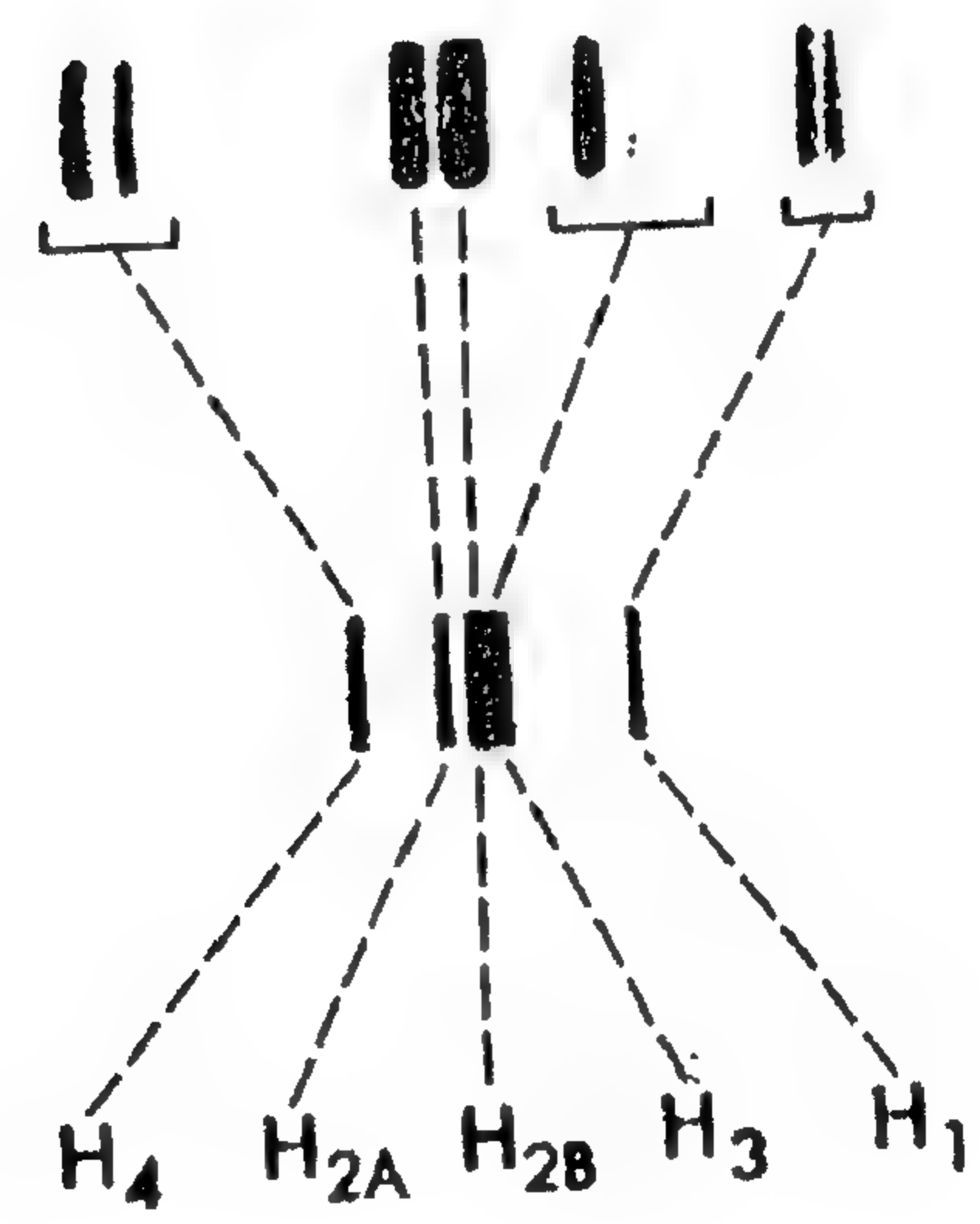
شكل (٤-١) التركيب الجزيئي للكروماتين



شكل (٤-٢) أنواع الهستونات

Long gel

Short gel



شكل (٤-٣) يوضح التركيب الجزيئي للجسيمات النووية

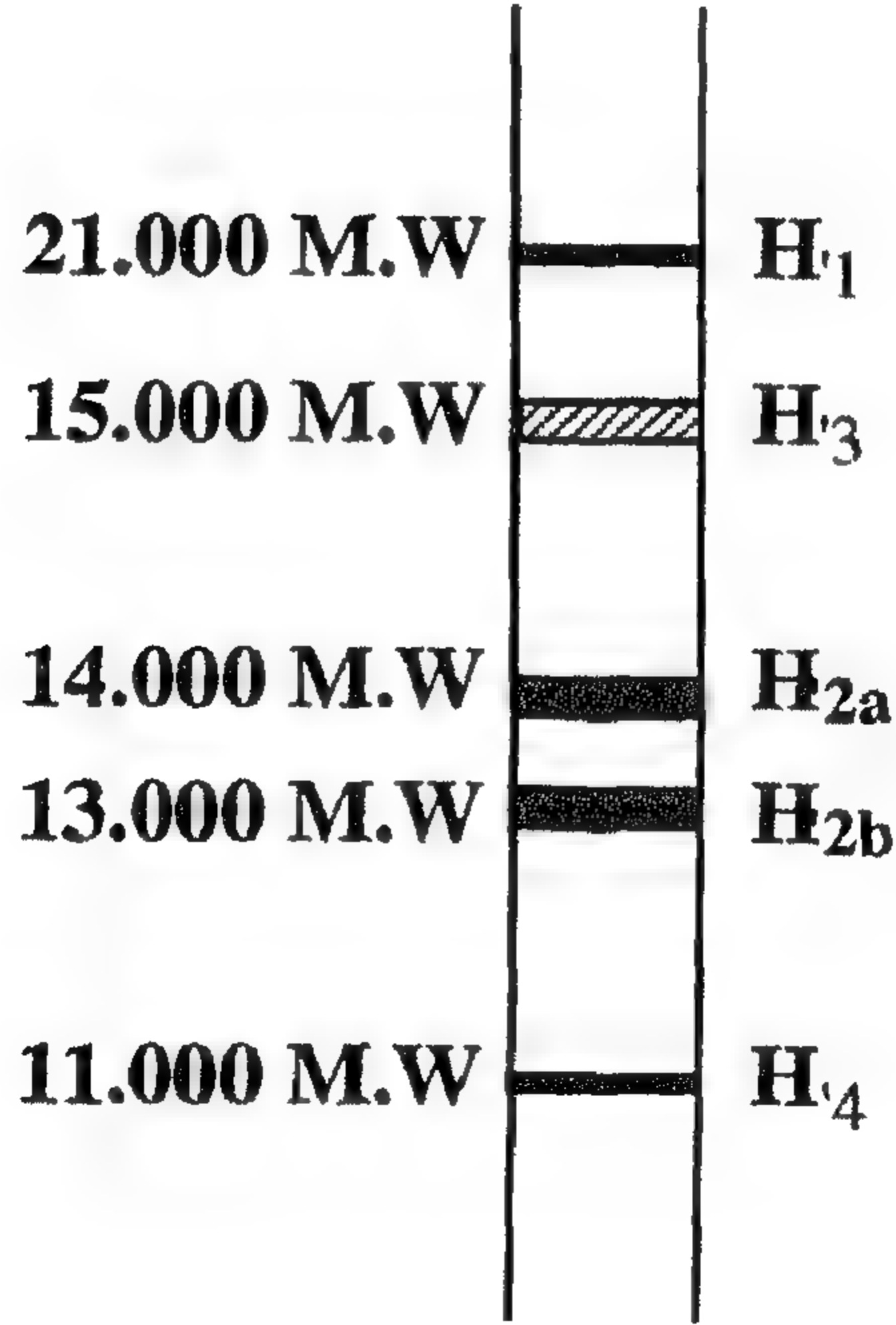


### الخواص الكيميائية للهستونات :-

١- تحتوي الهستونات على ٢٠-٣٠٪ أحماض أمينية قاعدية من الأرجنين واللايسين وهي تحتوي على شحنة موجبة ( $\text{NH}_3^+$ ) تتفاعل مع الشحنة السالبة لمجموعة الفوسفات ( $\text{PO}_4^-$ ) في جزئي الـ DNA .

٢- ان المجموعات الخمسة من الهستونات توجد بنسب مولارية molar ثابتة فهي تقريبا  $\text{H}_1, \text{H}_2, \text{H}_3, \text{H}_4$  .

٣- يمكن فصل وتنقية هذه البروتينات بواسطة تقنية الهجرة الكهربائية باستخدام polyacrylamid gel كما في الشكل المرفق .



شكل (٤-٤) يبين أنواع الهستونات وأوزانها الجزيئية  
(تقنية الهجرة الكهربائية)

## الجسيمات النووية Nucleosomes

وتتكون من البروتينات القاعدية (الهستونات) مع الحامض النووي DNA وهي المكونات الأساسية للكروموسومات.

فقد وجد أنه عند استخلاص الكروماتين من الأنوية يظهر التركيب الأساسي الذي يبدو عبارة عن شكل يشبه حبات المسبحة **Beaded form** والتي يطلق عليها اسم الجسيمات النووية **nucleosomes**. ويبلغ طول الحبة الواحدة حوالي 110 أنكستروم وارتفاعها 60 أنكستروم وشكلها اهليلجي وترتبط مع بعضها بواسطة خيوط دقيقة تسمى بالـ **linker-DNA** أو ما بين الجسيمات النووية والتي يبلغ طولها من 50-340 أنكستروم والذي يعتمد على نوع الخلايا. ويعتقد كورنبرك (1977) أن الهستون  $H_1$  يرتبط مع **linker-DNA** من الخارج ويبلغ قطر المعقد هذا  $A^{0.30-0.35}$ .

وقد وجد أن لب الجسيم النووي **nucleosome core** يتكون من تركيب ثماني **octamer** مؤلف من جزئين كل منهما مكون من أربع هستونات  $2X(H_4, H_3, H_2 b, H_2 O)$ . أما سطح اللب فيحاط بواسطة شريط حلزوني فائق اللف من الـ DNA بمقدار لفة واحدة وثلاثة أرباع اللفة (1.75 لفة) من 80 نيكليوتيدة لكل منها بمعنى أن عدد النيكلوتيدات الملفوفة يبلغ 140 زوج حيث يتكون معقد مقاوم للأنزيم **nuclease** أما الخيوط الرابطة **linker** فهي قطع حساسة لمهاجمة الأنزيم **nuclease**.

أما في التركيب الكامل فإنه يتكون من حوالي 200 نيكليوتيدة من DNA وحوالي تسع هستونات (كما الشكل 5- ) والذي يلاحظ فيه تثبيت اللف الكامل للـ DNA بواسطة الهستون  $H_1$  المحيط بالتركيب الثماني.

تتكون الوحدة الثانوية الكاملة من الكروماتين ممايلي :  
١- لب الجسيم النووي ٢- الخيط الرابط DNA ٣- على الاقل جزئي واحد  
من الهستون  $H_1$  ٤- بالاضافة الى بروتينات لامستونية .

### التركيب الكروموسومي في بدائية النواة Prokaryote Chromosomes Structure

يختلف التركيب الكروموسومي لبدائية النواة عما لاحظناه في حقيقية النواة  
فكروموسوم البكتيريا المعوية *E.coli* يتكون من شريط مزدوج من جزئيات الـ  
DNA دائري الشكل يبلغ طوله حوالي ١١٠٠ ميكرون بينما تبلغ طول الخلية  
البكتيرية ١-٢ ميكرون فقط لذلك يتوجب على الكروموسوم ان يكون منطويا او  
ملتفا داخل الخلية ويطلق على هذا التركيب بالـ **folded genome** في حالة  
الكروموسوم الوظيفي ان جزئية الـ DNA المفردة في البكتيريا المعوية مرتب من  
عري **loops** او مقاطعات **domains** وكل واحدة منها ملتفة لفا فائقا  
**supercoiled** (مثل حبل التلفون الملتف) وهذا التركيب يعتمد على كلا من الـ  
RNA والبروتين وكلاهما من مكونات الكروموسوم المنطوي **folded**  
**genome** (الشكل ٥- ) .

ان اللف الفائق هو سمة هامة لجميع الكروموسومات في كل الكائنات من  
الفايروسات حتى حقيقية النواة.

ويكون اللف على نوعين اما :-

أ- لف فائق سالب **negative supercoil**

ب- لف فائق موجب **positive supercoil**

ان العديد من الوظائف البايولوجية للكروموسومات يمكن ان تتم فقط عنده

تكون جزئيات الـ DNA ذات لف سالب وهذا ما وجد في جميع كروموسومات البكتيريا حيث انه لازم لعمليات تبادل الاجزاء الـ **Recombination DNA** والتعبير الجيني **gene expression** وتنظيمه كما انه لازم لاغلب عمليات تضاعف الـ DNA والانتزيم الذي يحفز على تشكيل اللف الفائق السالب يسمى بالـ **DNA-gyrase** ويثبط نشاطه بواسطة بعض العقاقير **Drugs** مثل **nov-** **obiocin** وحامض الـ **nalidixic acid**.





## **الفصل الخامس**

**تضاعف واستنساخ**

**الاحماض النووية**



## تضاعف الـ DNA

لغرض فهم عملية تضاعف الدنا من الضروري التعرف على خمس سمات هامة في هذه العملية :

- ١- ان تزاوج القواعد النيتروجينية يكون دائماً بشكل متمم complementary .
- ٢- الشريطان في الـ DNA يكونان دائماً بشكل متوازيان ومتعاكسان antiparallel .
- ٣- تحتاج عملية التضاعف للدنا دائماً على المرصاف Template لبناء الشريط الجديد عليه .
- ٤- من الضروري تكوين البادئ primer .
- ٥- تتم جميع التفاعلات تحت سيطرة انزيمية وهي انزيمات البلمرة polymerases .





## تضاعف واستنساخ

### الاحماض النووية

## Replication and Transcription of Nucleic Acids

### تضاعف الدنا :- DNA-Replication

يتم تضاعف الـ DNA للفايروسات داخل جسم الخلية المضيفة ويتم تضاعف الـ DNA في بدائية النواة داخل المنطقة النووية أما في حقيقية النواة فيتم داخل النواة .

يتضاعف الدنا تضاعفا ذاتيا لنقل المعلومات الوراثية من الالباء الى الابناء وعلى ذلك يجب ان تكون العملية كاملة ودقيقة للمحافظة على الثبات الوراثي .  
وتتم عملية التضاعف في مرحلة بناء الـ DNA من الدورة الخلوية،  
DNA-synthesis .

### تضاعف الـ DNA في بدائية النواة :-

لقد اظهرت الدراسات التي تمت على البكتيريا المعوية E. coli في الدراسات الزجاجة in vitor ان عملية التضاعف تتطلب مايلي :-

١- وجود وحدات بنائية بادته .

٢- وجود ايون المغنيسيوم الفعال  $Mg^{++}$  .

٣- وجود انزيمات تضاعف الدنا (DNA-polymerases) .

٤- وجود المرصاف (القالب) template .

وفيما يلي الخطوات التي تتم فيها عملية التضاعف في البكتيريا المعوية :-

١- بدء التضاعف : تتطلب عملية التضاعف بدء فتح unwinding

للحلزون المزدوج لتكوين شريطين كل منهما يعمل كمرصاف Template ويتم ذلك بواسطة انزيم يسمى بالـ Endonuclease .

الذي يقوم بقطع السلسلة في مناطق السكر-فوسفات المكون للعمود الفقري الـ DNA وفي مناطق محددة منها.

ثم يحدث بعد ذلك تكسير الروابط الهيدروجينية الضعيفة التي تربط البيورينات مع البريميدينات. ونتيجة لذلك يتكون ما يسمى بفقااعات التضاعف replication bubble والتي منها يتكون شكل الشوكة replication-fork ويكون على شكل حرف (Y) كما في الشكل (٦-١)

٢- فتح مرصاف الـ unwinding of template-DNA يفتح الشريط في نقطة بداية التضاعف على طوله ويتم ذلك بمساعدة ثلاثة انواع من البروتينات وهي :-

أ- بروتينات مرتبطة مع الشريط المفرد للدنا التي تساعد على عملية الفتح وثبوت المرصاف لعملية البناء .

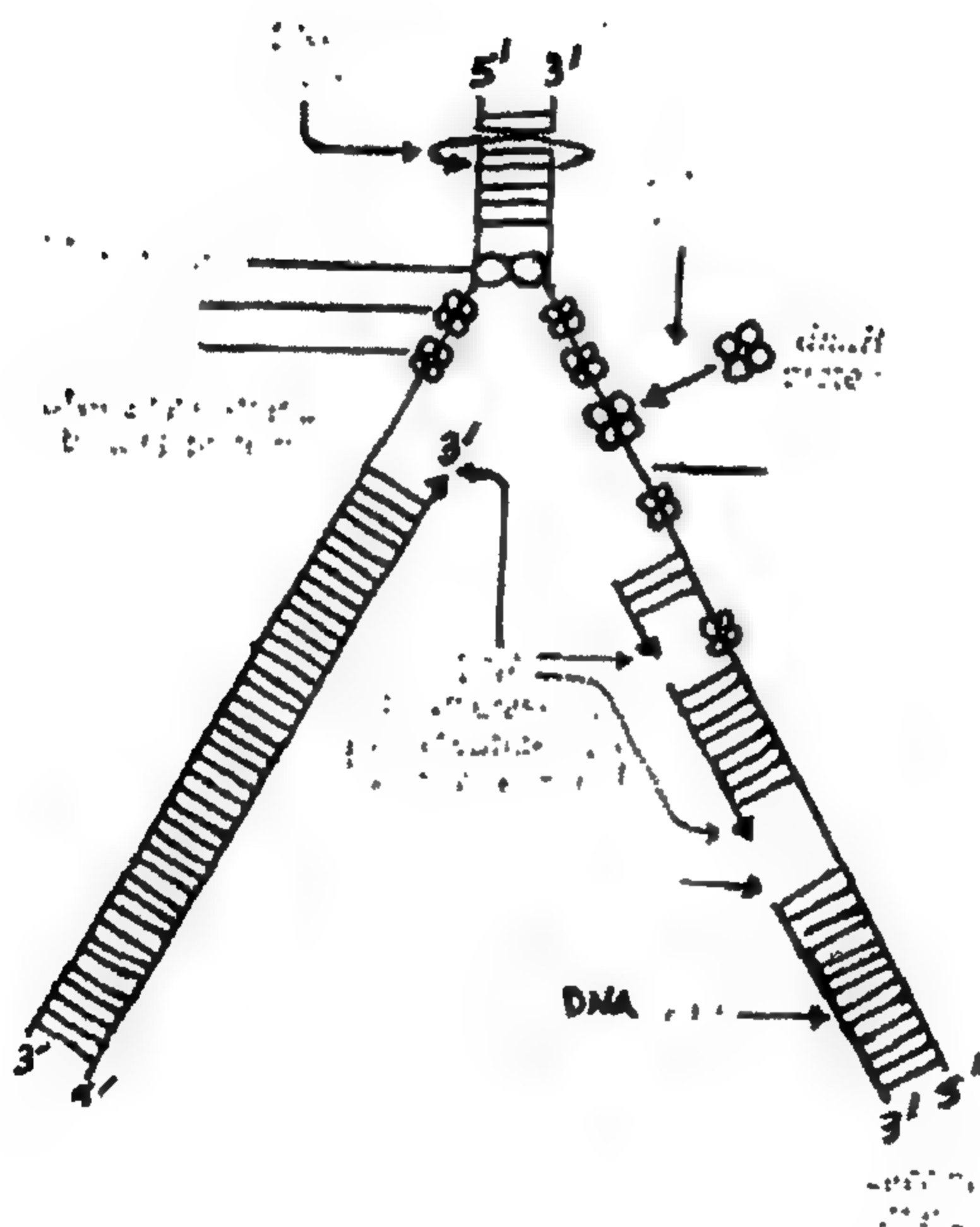
ب- بروتينات فتح الدنا او ما يسمى بالـ (DNA-helicase) وهي لازمة لغرض الشريط الحلزوني المزدوج .

ج- انزيم DNA-gyrase الذي يحفز تكون اللف الفائق السالب في الدنا.

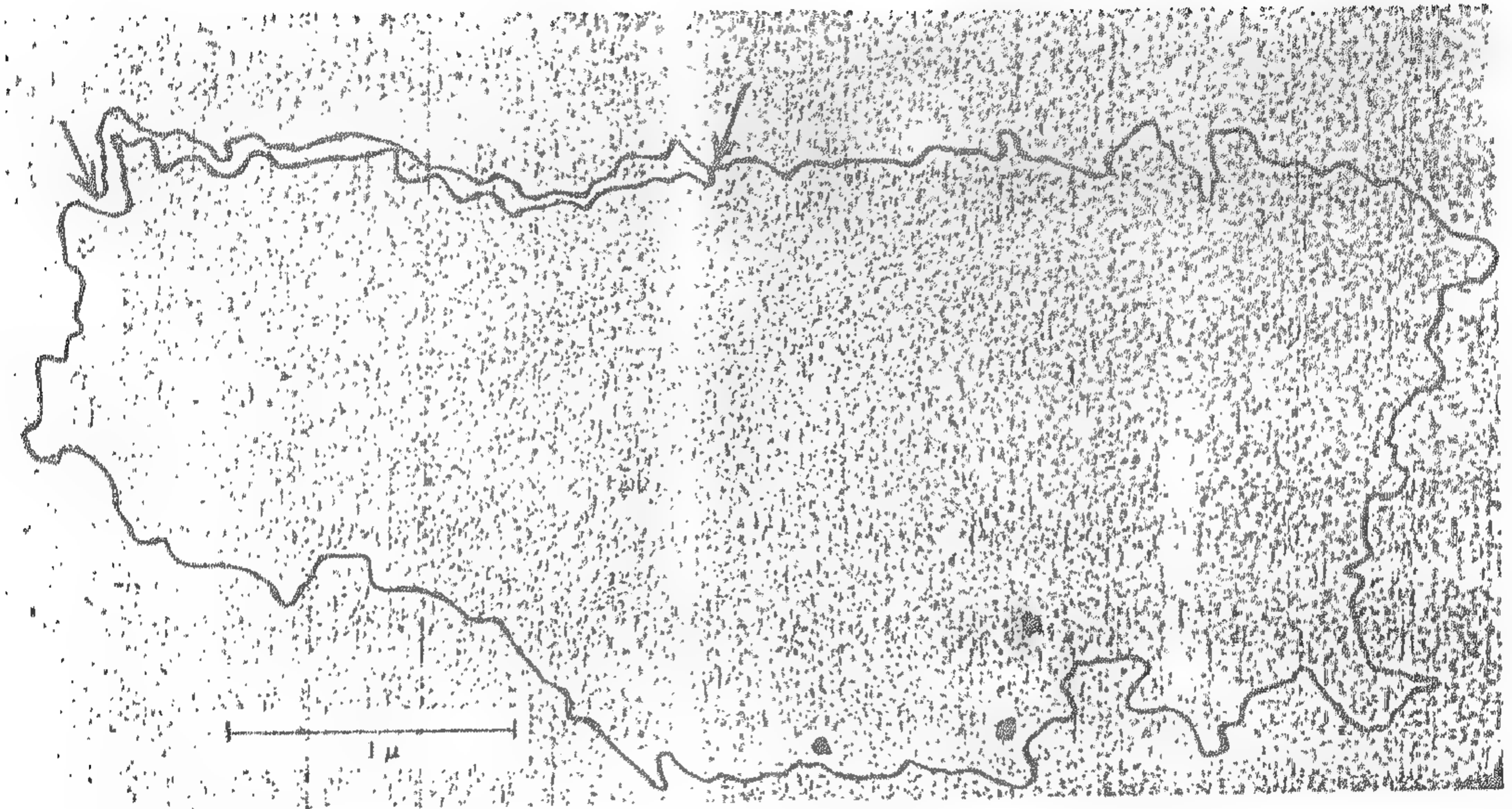
### ٣- البادىء : Priming

الانزيمات المسؤولة لاضافة اشربة جديدة متممة إلى المرصاف يمكن ان تعمل فقط عند وجود بادئ من النيكلوتيدات وهذا يتم بتخليق قطعة صغيرة من الـ RNA البادىء (primer-RNA) من خلال عمل انزيمي يسمى بالـ primases له خصائص تميزه عن الانزيمات RNA-polymerases ويبلغ طول البادىء في بدائية النواة من ١٠-٦٠ نيكلوتيدة. بينما يكون طوله في حقيقية النواة فقط ١٠ نيكلوتيدة.

ونتيجة فعل انزيم **primase** تكون مجموعة هيدروكسيل (OH) حرة على النهاية (3') في الـ RNA عليها تضاف نيكليوتيدات الدنا . ومن ثم يتم ازالة الرنا البادىء كلياً انزيمياً والذي يترك فجوة **Gap** في نيكليوتيدات الدنا الجديدة والتي يستوجب ملؤها .



شكل (١-٥) يبين خطوات تضاعف الـ DNA في البكتيريا



شكل (٥-٢) صورة بالمجهر الالكتروني تبين تضاعف الـ DNA في البكتريوفاج  
(نصف المحافظ)

الاسهم تشير الى المضاعفات Replicon



#### ٤- انزيمات البلمرة The DNA -polymerases

يوجد في البكتيريا المعوية ثلاثة انواع من انزيمات التضاعف (البلمرة) وهي **I, II, III** يعمل كلا منها على تحفيز تضاعف الدنا بتوجيه نيكليوتيدات الدنا ثلاثية الفوسفات توجيهاً مباشراً نحو دنا المصاف ويتم التضاعف لكلا الشريطين بالاتجاه (3' → 5').

الانزيم المبلمر **I** يتكون من حوالي ٤٠٠ جزئية وله وزن جزيئي ١٠٩,٠٠٠ يرتبط مع الشريط المفرد الـ **DNA** وهو المسؤول عن ملء الفجوة في البادىء كما انه يستخدم في توازن سلاسل النيكليوتيدات الجديدة واستئصال النيكليوتيدات المرتبطة ارتباطاً خاطئاً بالاتجاه (5' → 3') وهو ضروري ولا يمكن الاستغناء عنه في عملية تضاعف الـ **DNA**.

الانزيم المبلمر الثاني **II** ويتكون من سلسلة مفردة بوليتيدية تتكون من ٩٠,٠٠٠ - ١٢٠,٠٠٠ وزن جزيء له نفس القدرة على عملية البلمرة كالانزيم **(I)** كما ان له نشاط **Exonuclease** بالاتجاه (5' → 3') ولكن يفقد هذه القدرة بالاتجاه (3' → 5').

الانزيم المبلمر الثالث **III** وزنه الجزيئي ١٤٠,٠٠٠ و ٤٠,٠٠٠ حيث يتكون من سلسلتين ببتيديتين وعشرة جزئيات تحصل في كل خلية من خلايا البكتيريا المعوية.

ويتميز عن الانزيمين الاول والثاني بمايلي :-

أ- عدم استخدامه في الشريط المفرد للدنا .

ب- ليس له نشاط انزيم **Exonuclease** بالاتجاه (3' → 5').

ج- عدم ثبوته .

د- ميله الضعيف نحو نيكليوزيدات ثلاثي الفوسفات .



يعمل هذا الانزيم على غلق الفجوات من ١٠-٥٠ نيكليوتيدة على الشريط المزدوج للدنا كما انه يعمل بالاتجاه (5'---3').

#### ٥- قطع اوكازاكي Okazaki fragments .

لقد اشارت بعض الافكار الى أن احد الاشرطة تمتد بشكل مستمر بينما الآخر يتوقف استمراره. الا انه في الوقت الحاضر يتفق علماء الوراثة الجزيئية على على أن كلا الشريطين الوليدين (الجديدين) امتدادهما غير مستمر على المرصافين الدليل الرئيسي على التخليق غير المستمر **discontinuous synthesis** جاء من قبل العالم اوكازاكي ومساعديه. الذي لاحظ ان الاشرطة الوليدة في البكتيريا المعوية تضاف بشكل قطع مكونة من ١٠٠٠-٢٠٠٠ نيكليوتيدة وبشكل غير متصل مع بعضها البعض على كلا الاتجاهين في منطقة التضاعف وقد اطلق على هذه القطع اسم قطع اوكازاكي. ترتبط هذه القطع مع بعضها البعض لانتاج شريط جديد متصل بواسطة انزيم يسمى **DNA-ligase**.

وبلاحظ ان قطع اوكازاكي نفسها تتألف من ارتباط قطع ثانوية صغيرة والتي تحمل قطع صغيرة من نيكليوتيدات الـ **RNA** على النهاية (5') وتزال هذه القطع كما ذكرنا سابقا عندما ترتبط القطع الثانوية مع بعضها لانتاج قطع طويلة هي قطع اوكازاكي.

#### تضاعف الدنا في حقيقية النواة

#### Replication of Eukaryotic DNA

ان عملية تضاعف الكروموسومات في حقيقية النواة لا يتطلب فقط تضاعف الدنا وانما تضاعف للبروتينات المرافقه له مثل الهستونات واللاهستونات . ومن الناحية الجزيئية فان تضاعف الدنا في حقيقية النواة يبدو انه يتطلب عدداً

من الانزيمات المشابهة لما لاحظناه في تضاعف الدنا لبداية النواة وبنفس الآلية .  
فإنزيمات البلمرة لها نفس الفعاليات على كلا من تكوين المرصاف  
**template** (القالب) البادئ **primer** الذي شرحناه في بداية النواة .  
وقد اثبتت الدراسات ان الحامض النووي **DNA** يتضاعف بطريقة الاحتفاظ  
النصفي **Semi conservative replaction** .

أي أن كل شريط مفرد في الشريط المزدوج يعمل كقالب (مرصاف)  
**template** لتكوين شريط آخر جديد (متمم) ومن النوع غير المستمر  
**Discontinuous** بالإضافة الى ذلك فان قطع او كازاكي نتج بعملية التخليق  
غير المستمر ويتراوح عدد النيكليوتيدات بين ١٠٠ - ٢٠٠ وحدة فقط وهذا يعني ان  
عملية تضاعف الدنا في حقيقة النواة أبطأ منه (حوالي ميكرون واحد في الدقيقة)  
في بداية النواة (حوالي ٣٠ ميكرون بالدقيقة) .

### انزيمات البلمرة :

توجد ثلاثة انواع من انزيمات البلمرة في حقيقة النواة وهي مماثلة لانزيمات  
البلمرة في بداية النواة ويطلق عليها هنا بالفا  $\alpha$  وبيتا  $\beta$  وكاما  $\gamma$  بالإضافة الى ذلك  
فقد عزل انزيم بلمر رابع من الغدة التاييموسية **Thymus** للمجول ونخاع العظم  
في الارانب يطلق عليه اسم سكما  $(\sigma)$  sigma .

فالانزيم  $\alpha$  هو المسؤول عن تضاعف الدنا الكروموسومي  
وتقع الانزيمات  $\alpha$  و  $\beta$  في النواة اما الانزيم  $\gamma$  فيقع في الميتوكوندريا وفي  
البلاستيدات الخضراء في الخلايا النباتية ومن المحتمل ان هذا الانزيم هو المسؤول عن  
تضاعف كروموسومات هذه العضيات .

## المتضاعفات : The Replicon

لقد اثبتت الدراسات باستخدام تقنية التصوير الشعاعي الذاتي -autoradiography باستخدام نظير الهيدروجين المطعم بالثايمين ( $^3\text{H}$ -Thymidine) ان DNA كروموسومات حقيقية النواة يتضاعف بواسطة تكوين عدد من فقاعات التضاعف replication bubbles وباتجاهين ويطلق على قطع التضاعف هذه اسم المتضاعفات Replicons او وحدات التضاعف Replication unit . وكل كروموسوم يحتوي على سلسلة من المتضاعفات كلا منها يسيطر عليه بواسطة قطع مسيرة للعمل المشابهة operator - like segment يطلق عليها اسم منطقة التضاعف Replicator (في البكتيريا المعوية E.coli يوجد Replicon واحد فقط) .

## التضاعف نصف المحافظ لك DNA

### Semiconservative Replication of DNA

لقد ادى اكتشاف واظسن وكريك التركيب الحلزوني المزدوج لك DNA الى تفسير الكيفية التي يتضاعف فيها شريطا الحلزون .

فقد اظهرت تجارب ميزلسون Meselson وشتال Stahl عام ١٩٥٨ طبيعة الاحتفاظ النصفى لعملية تضاعف الدنا في البكتيريا المعوية باستخدام تقنية الطرد المركزي متوازن الكثافة .

كما اثبتت تجارب كيرنس Cairns عام ١٩٦٣ باستخدام طريقة التصوير الشعاعي الذاتي الى ان تضاعف كروموسوم البكتيريا المعوية يكون بطريقة الاحتفاظ النصفى . (حيث استخدم نظير الهيدروجين المطعم بالثايميدين ( $^3\text{H}$  - thymidine) .

اما بالنسبة لكروموسومات حقيقية النواة فقد اوضح تابلور Tylor وجماعته عام ١٩٥٧ طبيعة الاحتفاظ النصفى في تضاعفها عندما اجروا تجاربهم على خلايا القمة النامية لجذور الباقلاء ، وذلك باستخدام تقنية التصوير الشعاعى الذاتى اذ تمت تنمية الجذور في وسط يحتوي على نظير الهيدروجين المظلم بالثايميدين ( $^3\text{H}$  - thymidine) .

وفي تجربة ميزلسون وشتال نمت البكتريا المعوية *E. coli* في وسط غذائي يحتوي على النيتروجين الثقيل  $\text{N}^{15}$  بدلا من النيتروجين الخفيف  $\text{N}^{14}$  الاعتيادي ثم نقلت البكتيريا الى وسط اعتيادي وتركنت للانقسام مرة واحدة ثم تم عزل الدنا بطريقة الترسيب بقوة الطرد المركزي باستخدام محلول ملحي مشبع من كلوريد السيزيوم ( $\text{Csc1}$ ) بطريقة الطرد المركزي المتوازن الكثافة المذكورة اعلاه فقد وجدوا العالمين بان جميع جزئيات الدنا **DNA** الناتجة من الانقسام الاول هجينة ( $\text{N}^{14}$  -  $\text{N}^{15}$ ) اي ان احد الخيطين يكون ثقيل والآخر يكون خفيف . بعد انقسامين وجدوا ان ٥٠٪ من الجزئيات هجينة والـ ٥٠٪ الاخرى خفيفة قد اكدت هذه التجربة على ان التضاعف يتم بطريقة الاحتفاظ النصفى .

**استنساخ الاحماض النووية الرايبوزية RNAs-transcription**  
تم عملية استنساخ الانواع الثلاثة للـ RNA من شريط مرصاف الـ DNA الذي يحفز بواسطة مجموعة انزيمات التي يطلق عليها **DNA-dependent RNA-polymerase** .

يطلق على الشريط المرصاف للـ DNA اسم الشريط الحساس **sense strand** الذي يستعمل كقالب لتخليق الشريط المتمم للـ RNA بعملية الاستنساخ **Transcription** .



ويستبدل في هذه العملية الثايمين باليوراسيل . بعد ذلك تتم المعالجة بإزالة أو  
إضافة عدد من النيكليوتيدات

أو إضافة المثايل **methylation** لنيكليوتيدات معينة وفي البكتيريا يتم  
تحديد 0.1-0.2% من المجموع الكروموسومي لاستنساخ **rRNA** وهذا يزود ما  
يعادل عشر جينات تستنسخ لـ **rRNA** أما في الكائنات العليا فتكون ٢٦٠ جين  
في ذبابة الفاكهة دروسوفلا مثلاً .

ويتم استنساخ **rRNA** في حقيقة النواة في منطقة تنظيم النوية  
**nucleolar organizing region** والتي تحتوي الجينات الخاصة  
باستنساخ الـ **r-RNA** أن الجزء الأكبر من الحامض الرايبوزي يتواجد في النوية،  
بالإضافة إلى ذلك فإن منطقة تنظيم النوية تتضمن عدداً من الجينات المشابله والمتكررة  
المسؤولة عن عملية تخليق **r-RNA** أن **r-RNA** لا يحدد تعاقب الأحماض  
الأمينية في سلسلة العديد ببتيدات **polypeptides** .

بينما **m-RNA** هو الذي يحدد تعاقب الأحماض الأمينية في السلسلة تبدأ  
عملية الاستنساخ للـ **m-RNA** بتخليق جزئيات طويلة مسبقة **Precursor**  
بتحفيز انزيم **DNA-dependent RNA polymerase** من أحد  
الشريطين (القالب) للـ **DNA** ويكون فعل الانزيم على الأصرة فوسفات ثنائية  
الاستر (5' > 3') وقد تم معرفة عدد من الانزيمات في النباتات والحيوانات.

ويتألف انزيم النسخ في البكتيريا المعوية من عدة وحدات ثانوية **subunits**  
اثنان من سلسلة ألفا وسلسلة واحدة من بيتا وأخرى من بيتا فتحة **B** وسلسلة من  
عامل سكيما (  $\sigma$  ) (  $\delta$ -factor ) يبلغ وزنها الجزيئي حوالي ٤٩,٠٠٠ .  
فالسلسلة بيتا **B** هي المسؤولة عن ارتباط الانزيم بالـ **DNA** .



اما العامل سيكما فهو ضروري لنشوء الاستنساخ حيث يساعد على الارتباط في منطقة المثير (المحفز) **promoter** على الـ **DNA**. يطلق على البروتينات الاربعة المكونه لانزيم البلمرة عدا عامل السيكما اسم لب الانزيم **core enzyme** كما في الشكل (٦) .

ويتم الاستنساخ بالاتجاه (3'---5') باضافه رايبونيكليوتيدات على النهاية (3') وتنمو جزيئة الـ **RNA** بعكس التوازي **antiparallel** للـ **DNA** وتكون مكملة لشريط المرصاف في الـ **DNA**.

وتنمو سلسلة **m - RNA** بسرعة حيث تتضاعف ١٥ - ٥٥ وحدة في الثانية بالنسبة للبكتريا المعوية .

يقوم انزيم النسخ اللبي **core enzyme** بفصل الـ **DNA** الى سلسلتين وعاملا على اطالة الـ **RNA** بمتابعة ترجمة المرصاف (القالب) . كما تعود سلسلتا الـ **DNA** الى الارتباط كلما ابتعد الانزيم منها . هذا يقود الى الاعتقاد الى ان انزيم النسخ يترافق مع فعالية انزيم الحل **unwindase** الذي يؤدي الى فتح حلزون الـ **DNA** كذلك يعتقد ان صندوق بربينو (**pribnow - box**) هو سلسلة تعاقب للقواعد النتروجينية (**TATA AT**) تعمل على تسهيل عملية فصل المرصاف (القالب) عن مقابله .

يتصف الحامض النووي الرسولي **m - RNA** في حقيقة النواة باحتوائها على مناطق غير جينية (**Introns**) التي يجب ازالتها لذلك فانه يعاني تغييرات قبل تصديره من النواة الى السايتم بلازم ومن هذه التغييرات هي : التقطيع والمعالجة **splicing out and processing** .

١- اضافة تركيب القبعة (**cap**) على النهاية (5') ويظهر ان هذا التركيب

ضروري لتكوين معقد بين **m - RNA** والرايوسوم وبالتالي عمله في تخليق البروتين .

٢- اضافة عديد الادينوسين (**A**) (**polyadenosine A**) على النهاية(3) في حقيقيات النواة وهو موجود في جميع **m - RNAs** عدا تلك المسؤولة عن تخليق الهستونات . كما وجدت في انواع من البكتريا . ويبد أن **poly - A** ضرورة لمعالجة نهاية الاستنساخ وهي ليست لازمه لعملية تصنيع البروتين انما تعمل على ثبوت **m - RNA** .

٣- اضافة مجموعة الميثايل **Methylation** يعتقد انها تلعب دوراً في التعبير الجيني ويمكن ملاحظة عملية تخليق **m - RNA** في الشكل (٦ - ) .

٤- عملية التقطيع **splicing out** المناطق غير الجينية بين الانترونات الاكسونات .

إن عدد النيكليوتيدات وطول جزئية الـ **m-RNA** يعتمد على السلسلة الببتيدية التي يكون مسؤولاً عن تخليقها . فمثلا يبلغ عدد النيكليوتيدات المشكلة لسلسلتي الفا وبيتا في الهيموكلوبين اكثر من ٤٠٠ وحدة .

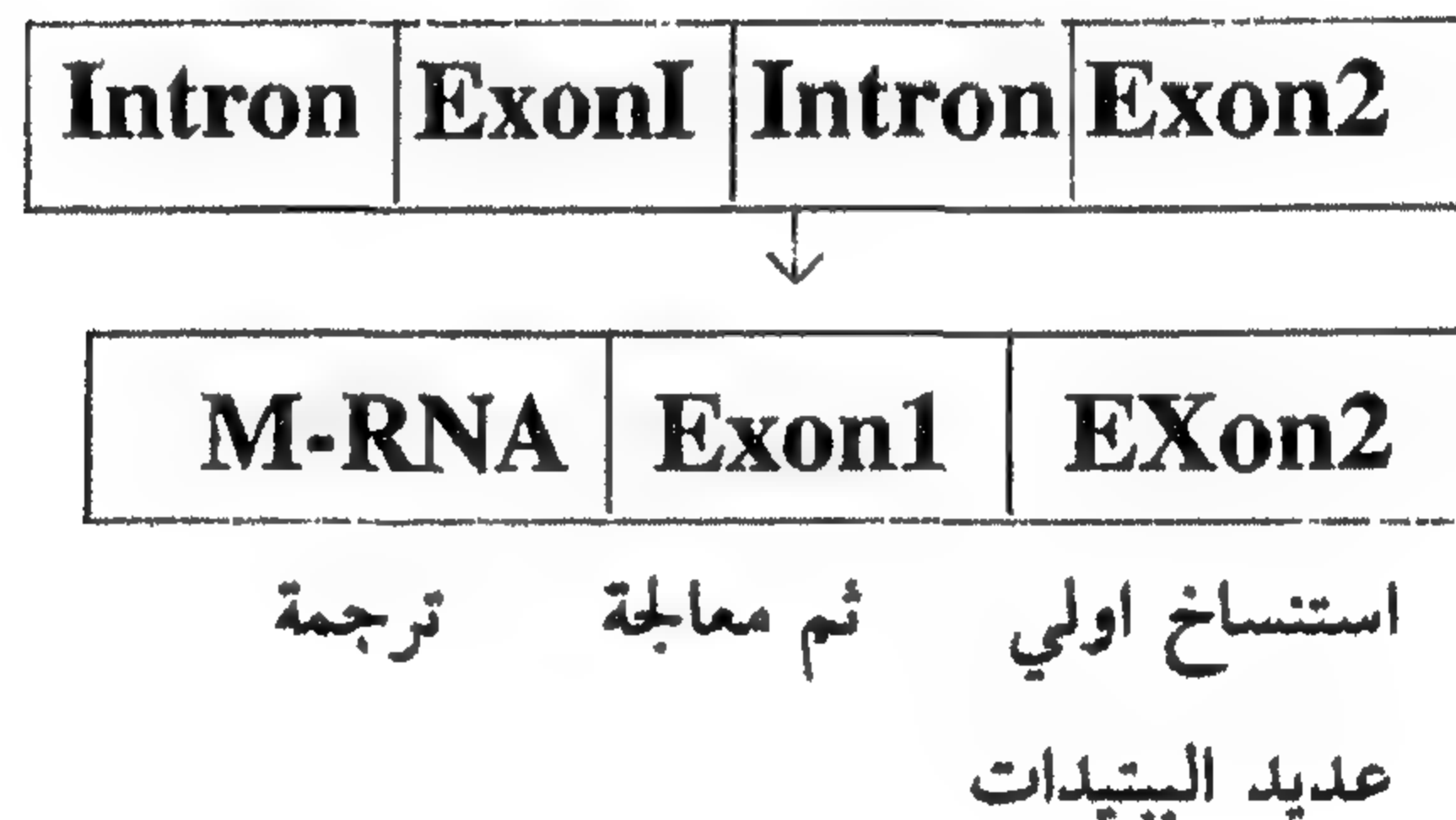
وفي الكائنات حقيقية النواة يوجد ثلاثة انواع من الانزيم المبلمر **RNA polymerase** وهي :

١- **polymerase** يقع في النوية ويقوم بتحفيز تخليق **r - RNA** .

٢- **polymerase** ويقع في العصير النووي ويقوم باستنساخ الجينات النووية التركيبية الرئيسية وهو المسؤول عن تخليص **pre - m-RNA**.

٣- **polymerase** ويقع في العصير النووي ايضاً ويقوم باستنساخ جينات للحامض النووي الصغيرة والرايبوزي الناقل **t - RNA**.

أما عملية انتهاء نسخ الرنا **termination of transcription** فتحدث في منطقة الانهاء على الـ **DNA** حيث توجد تتالي لقواعد عديدة المعنى **(5-6u + A3)** وبمساعدة اشارة تأتي عن طريق بروتين الانهاء الذي يعرف با **(Rho)** بروتين ١ - كما في الشكل (6)

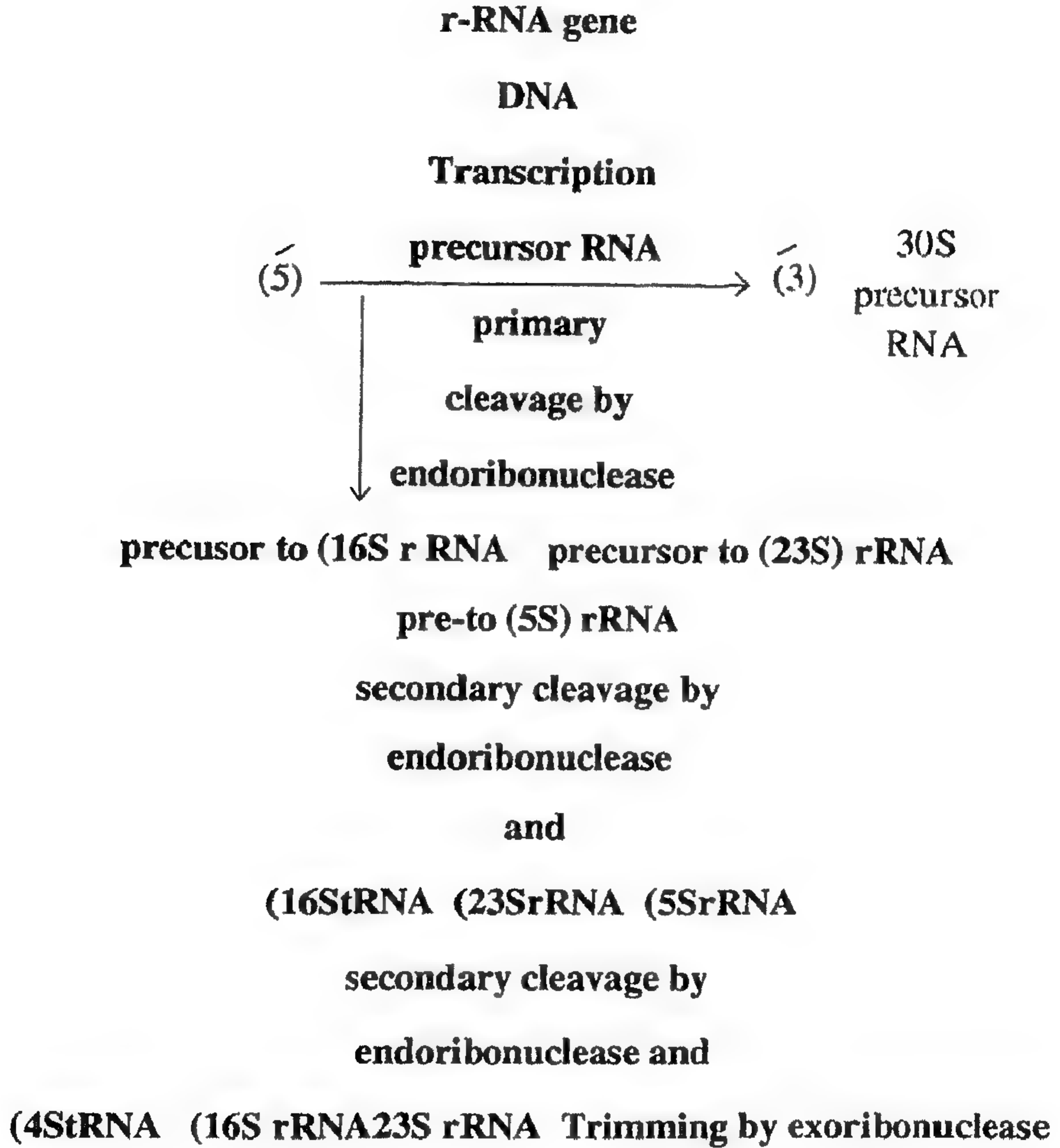


شكل ( ) يوضح عملية تقطيع الاثرونات وربط الاكسونات من الاستنساخ الابتدائي في عملية معالجة **m- RNA**

استخدام نظير الهيدروجين المشع (3H) إستنساخ **r-RNA** والمعالجة **processing** في البكتريا المعوية :-

**Transcription of the E. coli r-RNA:**

يمكن اجمال عملية الاستنساخ والمعالجة لـ **r-RNA** بالشكل التالي :-



ويضاف عند بلوغ **r-RNA** في المرحلة الثانية الى **(15S (45t RNA** أو الى الـ **(23S)** بعد الانشطار من المسبق **precursor**.

اما في حقيقة النواة فتقع جينات **r-RNA** بشكل متضاعفات في منطقة تنظيم النوية **(NOR)** للكروموسوم . فمثلا في الذرة تقع هذه المنطقة على

الكروموسوم رقم (6) بينما في ذبابة الفاكهة الدروسوفيللا فيقع على كروموسومات الجنس وفي الانسان تقع هذه المنطقة على كروموسومات رقم (13,14) (15,21,22) .

ففي البكتيريا المعوية قدرت عدد النسخ لجين **rRNA** بين (5-10) وهذا ليس مفاجئاً اذا أخذ بالاعتبار العدد الكبير من الرايوسومات الموجودة في كل خلية . بينما قدرت عدد نسخ الجينات المسؤولة عن نسخ **rRNA** في حقيقة النواة بين المئات وعدة الاف .

اما استنساخ **t- RNA** فيتم عن طريق الجينات الكروموسومية وكما هي الحال في **r-RNA** فان **t RNAs** يستنسخ بشكل مسبقات كبيرة الحجم التي تعاني المعالجة النهائية للاستنساخ وتشمل الانشقاق **Cleavage** والتشذيب **Trimming** والمثيلة **Methylation** .





## **الفصل السادس**

### **الانزيمات**

### **انزيمات الاحماض النووية**



## الانزيمات Enzymes

وهي عبارة عن حفازات **catalysts** تعمل على تسريع معدلات التفاعلات الكيميائية. والانزيمات عبارة عن بروتينات تنتج بواسطة الخلايا الحية واغلب هذه الانزيمات تعمل داخل الخلية المنتجة لها وتسمى **intracellular** ، او انها تعمل خارج الخلايا الناتجة وتسمى **extra cellular** مثل انزيمات الهضم .  
ولها خواص البروتينات مثل عمليات الهجرة الكهربائية **electrophoresis** وتغير طبيعتها ( الدنطرة ) **Denaturation** والانزيمات اما ان تكون بسيطة او مركبة والاخيرة تتطلب وجود مواد غير بروتينية ترتبط معها بشكل ثابت .

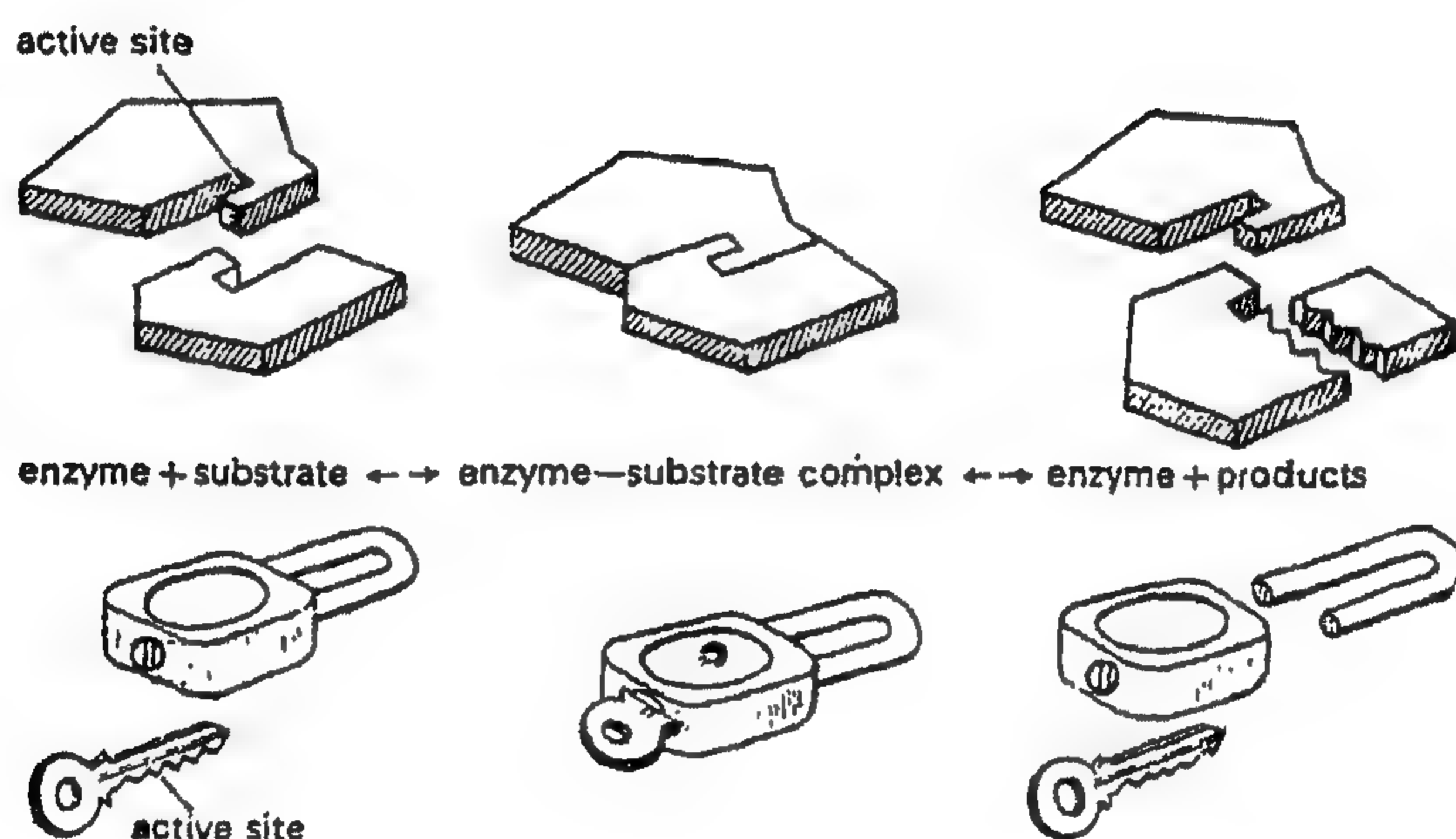
تعرف المادة التي يعمل عليها الانزيم بـ **substrate** او مادة التفاعل وتسمية الانزيمات يتأتى من اضافة المقطع (**-ase**) في نهاية اسم مادة التفاعل مثل **sucrase** الذي يعمل على السكر **sucrose** والـ **urease** الذي يعمل على اليوريا **urea** وهكذا .

ويطلق مصطلح **Apoenzyme** على قطعة عديد الببتيدات من الانزيم وعند ارتباطه مع المرافق الانزيمي **coenzyme** او العناصر المعدنية (مثل **zn,mn,mg**) فينتج ما يسمى بالـ (**Holoenzyme**) والمرافق الانزيمي قد يكون فيتامين وعندئذ يكون الانزيم فعال على مادة التفاعل . فمثلا عمل الانزيم سكسينيك ديهيدروجينيز على حامض السكسينيك الذي ينتج حامض الفيوماريك (بدورة كريس) يحتاج الى المرافق الانزيم **FAD** الذي يحمل **H2** المنزوع.

### آلية فعل الانزيم mechanism of enzyme action

يعمل الانزيم مع مادة التفاعل على فرضية القفل والمفتاح **lock and Key**

حيث يحدث اتحاد مؤقت بين الانزيم ومادة التفاعل اذ يمتلك كل انزيم على موقع فعال **active site** الذي يثبت على المادة التي يعمل عليها وعندئذ يتكون معقد من الانزيم ومادة التفاعل الذي يقوم بتكسيرها معطيا بذلك نواتج التفاعل ثم يتحرر الانزيم والذي بدوره يمكن ان يتحد مع مادة اخرى جديدة وهكذا وكما في الشكل ( ٦ - )



شكل ( ٦ - ) يوضح عمل الانزيم على مادة التفاعل

والانزيمات تعمل بمبدأ التخصص **specificity** وقد يكون التخصص مطلق او نسبي على المادة او رابطة معينة .



## فصل وتنقية الانزيمات

تفصل الانزيمات لا غراض مختلفه صناعية او طبية وغير ذلك ثم تنقي من المواد المختلطة معها :

### الخطوة الاولى : الانزيمات داخل الخلايا

للحصول على الانزيمات الموجودة داخل الخلايا يجري اولا تكسير جدران الخلايا والاعشيه باتباع ما يلي :-

استخدام الخلاط او الطحن بالهاون مع الرمل الناعم النظيف والرج السريع واستخدام مذيبات عضوية مثل الأسيتون او الكلورفورم او استعمال انزيمات محللة . ويجب ان تحصل العملية اعلاه تحت درجات حراريه منخفضة ( تحت الصفر المئوي) وذلك لخفض النشاط الانزيمي وفي درجة حموضة  $pH$  مناسبة وبذلك نحصل على محلول غني بالانزيم مذابا في المذيبات العضوية الأنفة الذكر .  
الانزيمات خارج الخلايا : يمكن الحصول على هذه الانزيمات وذلك بجمع الافرازات من اللعاب او من العصارة المعدية .

### الخطوة الثانية : الفصل والتنقية

وذلك بازالة المكونات الاخرى المختلطة مع الانزيم ومن الطرق المتبعة في ذلك هي :

#### ١- الفصل الغشائي Dialysis

بما أن الانزيمات مواد بروتينه وتمتاز بحجومها الكبيرة فيمكن فصلها بواسطة كيس من السيلوفان او ورق البارشميت الذي يغمر في أناء يحتوي على ماء مقطر

حيث تنفذ الأيونات والمواد غير المتأينة للخارج وتبقى جزيئات البروتين ( الانزيم ) في الداخل لكبر حجمها

٢- بالترسيب : باستخدام كبريتات الامونيوم .

٣- كروماتوغرافيا العمود **column chromatography** وفيها يوضع المستخلص في العمود باستخدام مذيبات معينة حسب معامل التوزيع **partition coefficient** (يمكن الرجوع الى الكتب المتخصصة في الكروماتوغرافيا للمزيد من المعرفة عن هذه التقنية ) . وبعد ذلك عند انفصال الانزيمات يمكن اجراء عملية البلورة اذ يتحول الانزيم الى بلورات .

## مثبطات الانزيمات

### Enzymes inhibitors

وهي المركبات التي يمكنها ان تتحد مع الانزيم وتمنع اتحاد الانزيم مع مادة التفاعل الاعتيادية وتثبط نشاط الانزيم على مادة تفاعله والتي يطلق عليها **antimetabolites** وتقسم المثبطات الى قسمين :

#### ١- مثبطات منافسة **competitive Inhibitors**

في هذا النوع ينتج ان المثبط له تركيب مشابه للمادة التي يعمل عليها الانزيم حيث يفقد الانزيم اتحاده مع المادة الاعتيادية ويتصل بالمادة المثبطة . وهذه التفاعلات تكون عكسيه اي انه يمكن ان يرجع الانزيم الى حالته الاولى عند زيادة نسبة تركيز مادة التفاعل الاساسية واحسن مثال على ذلك هو تثبيط السكسنات ديهيدروجينيز بواسطة حامض المالمونيك الذي يعمل اساساً على حامض السكسنيك ( دورة كريبس ) ويطلق على هذه المثبطات بالمتخصصة .

## ٢- مثبطات غير منافسة non- competitive

وهي مثبطات غير متخصصة وفيها يتم اتحاد المثبط مع موقع على الانزيم وتتوقف سرعة التفاعل على تركيز المثبط وعلى الفته مع الانزيم ومن الامثلة على ذلك آيونات المعادن الثقيله مثل ايون الفضة والزئبق والرصاص . وهي تسبب تثبيط غير عكسي ولا يحدث تنافس . ومن المثبطات غير المتخصصة هي الحرارة العاليه والقواعد والاحماض القويه والاشعه فوق البنفسجية حيث تعمل على مسح الانزيم .

## العوامل المؤثرة على معدل التفاعل الانزيمي

كما مر سابقاً لا حظنا ان الانزيم يتأثر بعدد من العوامل الفيزيائية والكيميائية التي تعمل على مسح الانزيم ( الدترة) ومنها :

١- درجة الحرارة : يتأثر معدل تفاعل الانزيم بدرجات الحرارة حتي درجة معينه تسمى بالحرارة المثلى optimum (40-60) م

## ٢- تركيز ايون الهيدروجين (pH)

لكل انزيم درجة حموضه معينه والتي يعمل عندها الانزيم بأقصى درجة +التي تسمى optimum pH)

## ٣- تركيز مادة التفاعل

يزداد معدل التفاعل بزيادة تركيز مادة التفاعل حتى نقطة معينه والتي عندها يثبت معدل التفاعل الانزيمي .

## ٤- تركيز الانزيم

يتناسب معدل سير التفاعل تناسبا طرديا مع زيادة تركيز الانزيم على فرض ان العوامل الاخرى تبقى ثابتة عند الدرجه المثلى .

## ٥- تأثير التغذية الراجعة ( الناتج النهائي) Feed back Inhibition

ويحدث عندما تتوقف الخطوة الاولى في تفاعل بنائي في سلسلة من التفاعلات الانزيمية وعندئذ يتكون ما يسمى بالتغذية الاسترجاعية كما في المثال:



فالركب **D** ( ناتج نهائي ) في السلسلة يمكن ان يثبط الانزيم (١)

٦- الاشعاعات مثل **UV** تعمل على تثبيط الانزيمات وكذلك اشعة  $\alpha$  و  $\beta$

كما ان الضوء يعمل على تثبيط نشاط معظم الانزيمات .

ولزيد من المعرفة عن الانزيمات يمكن الرجوع الى كتب الكيمياء الحيوية

و الفسيولوجيا .

## تقسيم الانزيمات

### classification of Enzymes

تنقسم الانزيمات الى مايلي :

#### ١- انزيمات التحلل المائي : **Hydrolysase**

وهي الانزيمات التي تعمل على تكسير الروابط باضافة الماء مثل انزيمات **nucleases** التي تقوم بتحليل الاحماض النووية مائيا الى نيكليوتيدات ومن ثم الى نيكليوزيدات واخيرا الى السكر الخماسي والقواعد والفوسفات .

وانزيمات **peptidases** والـ **Lipases** والمالتيز **maltase**

#### ٢- انزيمات الاكسدة والاختزال : **oxidoreductases**

وهي أنزيمات متخصصة في عمليات الأكسدة (انتزاع الالكترونات مثل الهيدروجين) والاختزال (اضافة الالكترونات) مثل الهيدروجين للمواد مثل انزيم **Dehydrogenase** والـ **Oxidase** و **Peroxidase** تحتاج إلى مستقبلات الكترونية مثل **NAD** والـ **FAD** .

### ٣- انزيمات النقل : **Transferases**

وهي انزيمات تحفز نقل مجموعة كيميائية من مركب الى مركب آخر  
**aminoalyltransferase** .

### ٤- انزيمات المشابهات **isomerase**

وهي الانزيمات التي تعمل على تحويل مادة الى مادة متماثلة او مشابهة لها مثل  
**Epimerase**



### ٥- انزيمات الفصل **Lyases**

وهي الانزيمات التي تعمل على فصل مجموعات من المادة بخلاف التحلل  
المائي مثل انزيمات **Decarboxylase** التي تعمل على فصل **Co** والـ

### **Fumarase**

### ٦- الانزيمات الرابطة : **Ligases**

وهي الانزيمات التي تحفز على ربط جزيئين معاً ويقترن عملها بوجود مركب  
الطاقة **ATP** مثل الانزيمات الرابطة للاحماض النووية سيأتي الحديث عنها .

### الانزيمات المشابهة : **isozymes**

توجد بعض الانزيمات باشكال جزيئية متعددة في نسيج معين وهي تعمل على  
تحفيز نفس التفاعل وتتميز من الناحية المناعية والهجرة الكهربائية . ومن الامثلة على  
ذلك انزيم **Lactate dehydrogenase** في بلازما الدم الذي يوجد على  
الاقل بخمسة اشكال والتي يطلق عليها اسم **isozymes** فمثلا الموجود في  
نسيج الكبد هو ايسوزيم 5' بينما بالقلب يوجد ايسوزيم (1,2)



## مضادات الانزيم : Antienzymes

وهي عبارة عن بروتينات او مواد مشابهة للبروتينات التي تنتج في جسم الكائن الحي والتي تعمل على تثبيط فعل الانزيم .  
وتتضمن هذه مضادات لا نزيم الببسين والتريسين كما في بعض الديدان الطفيلة مثل الاسكارس ولهذا السبب فانها لا تهضم داخل الامعاء التي تعيش فيها كما توجد مضادات انزيم الاميليز .

## الاهمية الطبية لبعض الانزيمات

### Diagnostic applications of Enzymes

يعتبر قياس النشاط الانزيمي في السوائل الجسمية مثل بلازما الدم من الطرق المستخدمة لتشخيص بعض الامراض مثل انزيم تخثر الدم والانزيمات الناتجة من تكسر الكريات الدمويه الحمر والبيض فعند موت الخلية فان انزيماتها تدخل مجرى الدم فعند زيادة مستوى انزيم معين في الدم غالباً ما يكشف عن ضرر او تلف للانسجة كما يحدث في التهاب الكبد الفيروسي **hepatitis** وفي حالة الذبحة القلبية مثلاً وفي الجدول التالي يوضح اهمية بعض الانزيمات المستخدمة في التشخيص السريري .

جدول (٦-١) يبين بعض الانزيمات المستخدمة في التشخيص السريري

النزيم	المستوى	النسيج المصاب
amylase	منخفض في البلازما	البنكرياس والكبد ومرض السكري
Lactic dehyrdgenase	مرتفع في الدم	الذبحة القلبية . اللوكيميا والاورام السرطانية
Acid phosphatase	مرتفع في الدم	سرطان البروستات
ALkaline phosphase		لين العظام الكبد عند الاصابه باليرقان
Glutamic oxaloacetic	مرتفع في الدم	الذبحة القلبية تلف الكبد
Transaminase		
Glutamic pyruvic	طبيعي 2%	المضلات القلب والمخ
Transaminase		
cerulo plasmin	مرتفع	تليف الكبد الاصابات البكتريه الحمل
cholinesterase	مرتفع	امراض الكليه مرض الكبد
	منخفض	التسمم بالمبيدات الحشرية
isocitric dehydro-	مرتفع	الكبد - اورام المخ التهاب السحايا
hendse ( IcD)		

## انزيمات الاحماض النووية Nucleic Acid Enzymes

يمكن تقسيم الانزيمات العاملة على ايض الاحماض النووية الى ثلاثة مجموعات وهي :

انزيمات البلمرة polymerization

انزيمات التحويرات modification

الانزيمات المحللة degradation

فانزيمات البلمرة: DNA-polymerase وال-RNA polymerases تعمل على اضافة النكليوتيدات وذلك باضافة الفوسفات الاحادية الى النهاية (3-OH) .

اما انزيمات التحويرات فتشمل ثلاثة طرق هي :

١-التغيرات الكيميائية في زيادة او نقصان طول السلسلة التي تم استنساخها كما هي الحال باضافة مجموعة الميثايل methyl group .

٢- انزيمات القطع والتشذيب cutting and trimming

كما يحصل عند معالجة ال-RNA حيث يحصل شطر للسلسلة في مواقع محددة وازالة الاجزاء غير المستعملة من جزيء ال-RNA

٣-انزيمات المحورة التي تعمل على زيادة طول السلسلة مثل انزيم ligase الذي يقوم بربط قطع ال-DNA او قطع ال-RNA

ثم انزيمات الاضافة النهائية Terminal addition enzymes التي تقوم باضافة الى البادئ في ال-DNA وال-RNA دون الحاجة الى المرصاف template كما هي الحال باضافة CCA الى النهاية (3) في tRNA واطافة poly (A) الى النهاية (3) في m-RNA لحقيقة النواة.

اما بالنسبة للمحللة فتشمل على انزيمات **DNases** وال **RNases**  
والإنزيمات القاطعة (المقيدة) **restriction endonucleases**

### انزيمات البلمرة **DNA**

أ- في البكتريا المعوية **E.coli**

تمتلك خلايا البكتريا المعوية **E.coli** ثلاثة انزيمات للبلمرة ويطلق عليها

١، ٢، ٣ .

فالاول هام واساسي في تضاعف ال **DNA**

كما انه يقوم باصلاح ال **repair of DNA** نتيجة التلف بسبب الاشعة او  
العوامل الكيماوية . حيث ان له فعالية محللة من النهاية (3-->5)

وهو المسؤول عن حذف (بتر) البادي في تضاعف ال **DNA**

ويبلغ وزنه الجزيئي ١٠٩،٠٠٠ دالتون ويتكون من ٤٠٠ جزيئة

اما الانزيم المبلمر الثاني (2) لايعرف له وظيفة بشكل محدد ويعتقد انه يقوم  
باصلاح ال **DNA** عند عدم وجود الانزيم الاول اما انزيم المبلمر الثالث (3) فيبدو  
انه له دور اساسي لا يستغني عنه في عملية تضاعف ال **DNA** . لاحظ الفصل  
الثالث .

ب- في حقيقة النواة :

تمتلك خلايا حقيقيه النواه اربع من انزيمات بلمرة الدنا وهي بما ثلة لانزيمات

البلمرة في بدائية النواة (البكتريا)

وتسمى بالفا (  $\alpha$  ) وبيتا (  $\beta$  ) ويوجدان في نواة الخلية وكاما (  $\delta$  ) ويوجد في  
الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء وربما يكون مسؤولاً عن تضاعف الدنا في هذه  
المعضيات اما الرابع فقد عزل من نخاع عظم الارانب والغدة التاييموسية في المعجول  
ويطلق عليه سيكما (  $\sigma$  ) ولا يعرف دوره بالضبط .

## انزيمات البلمرة للـ RNA

### أ- في البكتريا المعوية *E. coli*

تعمل انزيمات البلمرة للـ RNA على تحفيز استنساخ transcription الرنا من جزئيات الدنا.

وقد نالت انزيمات البلمرة في البكتريا المعوية دراسات مستفيضة وله وزن جزئي مقدار ( 490,000 ) ويتكون من ست من عديدات الببتيدات .

يتألف الانزيم من جوهر الانزيم core enzyme ويتكون من وحدات ثانوية من جزئيتين من عديد الببتيدات تسمى (  $\alpha$  ) الفا ومن جزئية  $\beta$  وبيتا فتحة (  $\beta$  ) و w بالاضافه الى المرافق لجوهر الانزيم وحدة ثانوية تسمى سيكما (  $\sigma$  ) وهي لازمة لنشوء عملية الاستنساخ وليس لها وظيفة محفزة .

ويتحرر العامل سيكما بعد بدء تخليق الـ RNA وتتم اطالة السلسلة بتحفيز من لب الانزيم . اما العامل سيكما فانه يعمل على ربط الانزيم في الموقع الصحيح على الدنا والمسمى بالمحفز promoter يوجد اكثر من خمسين محفز في البكتريا المعوية .

### ب - في حقيقة النواة

توجد ثلاثة انواع من انزيمات البلمرة للرنا من خلايا الخمائر حتى خلايا الثدييات ويطلق عليها ( ١ ) و ( ٢ ) و ( ٣ )

الاول يتواجد في النويه ويعمل على تخليق r-RNA .

الثاني والثالث يقعان في عصير النواه . فالثاني يقوم باستنساخ عدد كبير من الجينات التركيبية المسؤولة عن تخليص الـ pre m- RNA .



اما الثالث فيقوم باستنساخ جينات الرنا الناقل t-RNA

**الانزيم الناسخ العاكس: Reverse transcriptase**

تمتلك جميع الفايروسات الارتكاسيه ( القهقرية ) **Retroviruses**

على الانزيم الناسخ العاكس وهو الانزيم الذي له فعالية استنساخ الدنا DNA من الحامض النووي الرايبوزي RNA ( بالتمور (1972Baltimore) اذ وجد ان بعض الفايروسات الحيوانية والحاملة للدنا RNA كمادة وراثية تمتلك هذا الانزيم ومن المعروف ان بعض الفايروسات القهقرية تسبب السرطان مثل الساركوما واللوكيميا في الطيور والجرذان وفايروس نقص المناعة المكتسب (المسبب للمرض المعروف بالايدز )

ويعمل هذا الانزيم عند وجود m-RNA النقي كقالب لتخليق الدنا المتم (cDNA) حيث يحفز هذا الانزيم التفاعل بالانجاء RNA → DNA .

ويتوسط هذا الانزيم على تحويل المعلومات الوراثية الموجودة على الشريط المفرد للرنا الى شريط مزدوج للدنا .

وتستخدم هذه الطريقة في تقنيات الهندسة الوراثية التي سيأتي الكلام عنها في الفصول القادمة . اذ تستخدم جزيئات الدنا المخلقة بهذه الطريقة على الاندساس في كروموسومات الفاج او البلازميدات بواسطة الانزيم الناقل النهائي terminal transferase ومن ثم تنسيلها (clone) .

## (II) - انزيمات المحورة modification- Enzymes

### ١-انزيم المثيلة methylases

تعتبر عملية مثيلة الاحماض النووية من اكثر عمليات التحويل فني DNA النبات تشكل (5-methylcytosine) حوالي 5-6%

وفي DNA الحيواني تشكل حوالي 2-7% كما وجد ان هناك حوالي (40) من مثيلة القواعد التروجنية تحصل لل t-RNA كما ان تركيب القبة على النهاية 5' في حقيقة النواة يتضمن مجموعات من ال methyl

وقد تم اكتشاف العديد من انزيمات المثيلة وتمت تنقيتها - وتفاعلات المثيلة تتطلب مجموعة methyl تنقل الى الحامض النووي من واهب للميثايل مثل S- adenosylmethionine ان دور عملية المثيلة للحامض النووي DNA هو حمايته من الانزيمات القاطعة في البكتريا وذلك باضافة مجموعة الميثايل CH<sub>3</sub> الى الادين أو السايتونين أما دور عملية المثيلة بالنسبة لل RNA فغير معروفه لكن هنالك بعض الادلة التي تؤكد على ان عملية التحويل باضافة الميثايل في الرنا الناقل (t-RNA) تزيد بشكل كبير العمل الوظيفي له .

وتحتل مجموعات الميثايل موقع على كاربون رقم (5') في البريميدينيات عند الاخدود الرئيسي الكبير في الدنا . وتلعب دوراً كبيراً في تفاعلات الدنا مع بعض البروتينات الخاصة وهذا ما لوحظ في اضافة او ازالة مجموعة الميثايل على lac- operon في البكتريا المعوية التي تعمل على تغير آلفة الكابح repressor مع الرنا .

وتشير بعض الادلة والدراسات الى ان المثيلة لها دور في عملية تنظيم التعبير الجيني في حقيقة النواة حيث أن :

- ١- هناك علاقة بين مستوى التعبير الجيني ودرجة المثيلة فعندما تقل المثيلة يزداد التعبير الجيني والعكس بالعكس .
- ٢- والمثيلة تخصص بها بعض الانسجة وان اكثر من ٩٠% من المثيلة للدنا في حقيقة النواة يحصل في الوحدات CG .

## انزيمات الاضافة النهائية Terminal addation enzymes

وتشمل على الانزيمات الناقلة النهائية **terminal transferases** حيث تعمل هذه المجموعة من الانزيمات على اضافة قواعد مفردة او قطع مكررة من الدنا **repetitive DNA** على النهاية 3' لسلسلة الرنا او الدنا ومن احسن الامثلة على ذلك هي اضافة القواعد **CCA** على نهاية الرنا الناقل التي تعتبر مستقبلات لنشاطه . كما ان اضافة عديدات الادين **poly-A** الى **m-RNA** في الكثير من خلايا حقيقية النواة على النهاية 3' بعد عملية الاستنساخ اصبحت معروفة التي تتم انزيمياً وقد وصفت هذه الانزيمات بشكل تفصيلي ، الا أن تفاصيل وهدف اضافة ال **poly-A** لا يزال غير واضح .

وقد لوحظ ان اضافة ال **poly-A** يتم تثبيطها بواسطة **(3dA) (3deoxyadenosine)** حيث تكون الانزيمات الخاصة باضافة **polyA** حساسة لل **(3dA)** .

ويستعمل الانزيم الناقل النهائي في طرق الهندسة الوراثية اذ انه لازم لتخليق جزيئات متممة وربطها على النهاية (3') لشريط الدنا في تقنية اعادة اتحاد الدنا **Recombinant DNA** .

## انزيم الربط DNA - ligase

تعمل هذه الانزيمات على ربط قطع عديدات النكليوتيدات وهو هام للكثير من الكائنات الحية لتضاعف الدنا حيث انه يعمل على ربط قطع اوكازاكي ( لاحظ تضاعف الدنا) كما يحفز على عملية اصلاح الدنا بعد التلف الذي يصيبه عند التعرض للاشعاع او التكسر وفي عملية اعادة اتحاد جزيئات الدنا **Recombination** فالانزيم الرابط هو المسؤول لهذه المهمات الشاقة الذي

يعمل على ربط النهاية 5' للفوسفات مع النهاية 3' للهيدوركسيل في جزيئة السكر المجاورة .

يستعمل الانزيم في البكتريا المعوية DPN كعامل مساعد بينما الانزيم في الخلايا الحيوانية يستعمل ATP كعامل مساعد وكذلك الخلايا المستحثة بواسطة الفاجات T4 و T7 .

### الانزيمات المحللة Endonucleases

ويطلق عليها كذلك بالانزيمات الهاضمة لك DNA ولك RNA وهي تعمل على تقطيع الاحماض النووية الى قطع صغيرة oligonucleotide وتستعمل كثيرا في المختبرات عندما يراد هضم هذه الاحماض ويطلق عليها DNAses وال-RNAses

#### (1) RNAses

##### DNASE(1)

وتقسم الى عدة اقسام وهي

وهذا الانزيم يعمل على تكسير الشريط المفرد الى قطع بدون تمييز ويترك النهاية 3(OH) وعندما يكون عدد التكسيرات كافيا فانه يعمل على تهدم الدنا المزدوج الاشرطه .

##### DNase (2)

وهذا الانزيم يحصل عليه من الطحال او الغدة التاييموسية ويعمل على الحلزون المزدوج الاشرطه ويترك عند النهاية للفوسفات وبدون مواقع متميزة .

##### nuclease S1 (3)

وهذا الانزيم امكن الحصول عليه من الفطر *Aspergillus oryzae*

ويستطيع هضم وتحطيم الشريط المفرد في حين يبقى المزدوج .



ويحصل عليه من البكرياس ومن **RNases T1** تستعمل هذه الانزيمات بشكل واسع في المختبرات. وتوجد في جميع انواع الخلايا .

وتقوم بشطر الشريط المفرد للـ RNA في مناطق تشكل الفوسفات الحلقية بين الموقعين (2 OH و 3) للرايبوز . يمكن غلق هذه الدائرة باضافة مجموعة الميثايل الى (2OH) من الرايبوز يتبع ذلك تحويل في جزيئة RNA الخلوية . ويقطع الانزيم الرنا عند القواعد ( البريميدينات ) المستخرج من البكرياس

بينما الانزيم المستخرج من البكتريوفاج **T1** فانه يهاجم الرنا عند الكوانين . في حين وجد ان الانزيم **T2** يقطع اي اصرة من الداخل .

وقد اكتشف حديثاً انزيم هاضم للرنا في الفطر **Aspergillus ustilago** الذي يعمل على شطر الرنا عند البيورينات ويطلق عليه **RNase U2** ومن الانزيمات الغريبة اكتشف ما يسمى **Ribonuclease H** في الخلايا وفي الفايروسات القهقريه الذي يعمل على تحليل الرنا تحللاً مائياً والذي يهجن مع الدنا .

كما انه ضروري لازالة البادئ RNA عند تخليق وتضاعف الدنا وفي الخلايا المصابة بالفيروسات القهقريه فانه يلعب دوراً في بناء الدنا واندساس دنا الفايروس في دنا الخلية المصابة وهذا الانزيم يزود عامل للتعطيم الاختياري لاجزاء الرنا عند تهجين DNA-RNA .

### الانزيمات المحللة خارجياً **Endonuclease**

وهي انزيمات تعمل على تكسير الاحماض النوويه من النهايات بعكس فعل الانزيمات ذات الفعاليه الداخليه **Endonuclease** التي تكسر الاحماض النوويه بالتقطيع من داخل السلسلة وتتميز هذه الانزيمات بفعاليتها بالاتجاه (3->5)



حيث تعمل على تحفيز ازالة النكليوتيدات واحدة بعد اخرى من النهاية (3) في السلسلة كذلك لها فعالية من النهاية كما (3->5) تلاحظ في البكتريا المعوية . ويتميز فعل هذه الانزيمات عن انزيمات البلمرة بالمواقع الفعالة الموجودة على البروتينات الانزيمية بمعنى ان الموقع الفعال للبلمرة بالاتجاه (3->5) يختلف عن الانزيم المحلل بالاتجاه (3->5) وتلعب هذه الانزيمات وانزيمات البلمرة دوراً مهماً في عمليات ايض الحامض النووي DNA .

تقوم انزيمات البلمرة في البكتريا المعوية بوظيفة **Exonuclease** التي تعمل على تصحيح القراءة لتسلسل النكليوتيدات وخاصة عندما يصيب قطع من الدنا التلف نتيجة التعرض للاشعة فوق البنفسجية الاشعاعات الاخرى او عوامل مختلفه كيميائه كذلك في ازالة البادي RNA من الدنا اثناء عملية التضاعف . اما في حقيقة النواة فان الفعاليه المحللة بالاتجاه (3->5) تتم عن طريق انزيمات منفصله عن انزيمات البلمرة .

## الانزيمات المشكلة لتوبولوجية الـ DNA

### Topoisomerases

تم حديثاً اكتشاف بعض الانزيمات التي تعمل على تغيير في اشكال الحامض النووي DNA حيث انها تعمل على تحويل طوبوغرافيا الدنا من خلال فعل انزيم احدهما يطلق عليه رقم ١ حيث انه يحفز على تحويل اللف الفائت للدنا الى الشكل المستريح (دون لف) وخاصة قبل عملية التضاعف .

اما الثاني ويطلق عليه رقم ٢ فعمله بعكس الاول اذ يحفز على تكوين اللف الفائت ونشاطه يزداد بعد تضاعف الدنا لغرض احتوائه داخل الخلية .

كما يعتقد انها لها دوراً في عملية استنساخ الرنا وفي عملية اعادة اتحاد الدنا

### Recombinant DNA

يمكن تنبع فعالية الانزيمات بتقنية الطرد المركزي متدرج الكثافة والترحيل الكهربائي .

## الانزيمات القاطعة (المقيدة)

### Restriction endonucleases

وهي الانزيمات التي تحفز على قطع شريط الدنا داخليا وفي مناطق محددة site - specific وعملها هو التمييز بين الدنا المتماثل الذي تحافظ عليه والدنا الغريب التي تعمل على تحطيمه .

ويعتقد ان عملية التمييز تترافق مع وجود مجموعة الميثايل على احدى التسلسلات فوجودها تمنع الانشطار والعكس بالعكس .

أن اول انزيم قاطع تم التعرف عليه وعزله من **Hemophilus**

**influenza** ويطلق حالياً على هذا الانزيم بالـ **Hin(2)**

وفي الجدول التالي يوضح انواع الانزيمات القاطعه في كائنات حيه مختلفه .  
 جدول (٦-١) يوضح التسلسلات المتميزه ومناطق الانشطار للانزيمات القاطعة  
 الانزيم المصدر

Enzyme	Source	Site of Action
Aat II	<i>Acinetobacter aceti</i>	GACGTC CTGCAG
Bam HI	<i>Bacillis amyloliquefaciens</i>	GGATCC CCTAGG
Bgl II	<i>Bacillus globigii</i>	AGATCT TCTAGA
Eco RI	<i>Escherichia coli</i>	GAATTC CTTAAG
Hind III	<i>Haemophilus influenzae</i>	AAGCTT TTCGAA
Pst I	<i>Providencia stuarti</i>	CTGCAG GACGTC
Sma I	<i>Serratia marcescens</i>	CCCGGG GGGCCC
Xho I	<i>Xanthomonas holcicula</i>	GTCGAG GAGCTC
Xma I	<i>Xanthomonas malvacaerum</i>	CCCGGG GGGCCC

ان الخلايا الحاوية على هذه الانزيمات تستطيع حماية حامضها النووي DNA  
 من فعل هذه الانزيمات وذلك باضافة مجموعة الميثايل بعد عملية التضاعف مباشرة  
 بتحفيز من انزيمات **methylases** .

بينما تعمل هذه الانزيمات على تقطيع جزيئات الدنا الغريب الداخلة من كائنات اخرى الى خلايا المضيف وفي عدد ثابت من القطع وهذا يعتمد على عدد مواقع القطع في كل جزيئة من الدنا .

ومن السمات المفيدة لهذه الانزيمات هي ان قطع الاشرطه المزدوجة يتم من نقاط مختلفة .

تلعب هذه الانزيمات دوراً هاماً في الهندسة الوراثية وفي تجارب تكوين النسلات clones .





**الفصل السابع**  
**كيمياء البروتينات**  
**البروتينات PROTEINS**



## البروتينات PROTEINS

البروتينات مكونات أساسية في جميع الخلايا وهي أغلب المركبات العضوية الموجودة في جميع الخلايا الحية وتشكل حوالي ٥٠٪ من الوزن الجاف للخلية .  
وهي عبارة عن بوليميرات من الأحماض الأمينية تتراوح أوزانها الجزيئية **Molecular Weight** من عدة آلاف إلى عدة ملايين دالتون . تتكون كيميائياً من الكربون ٥١٪ وهيدروجين ٧٪ ووكسجين ٢٣٪ ونيتروجين ١٦٪ وكبريت ٣-١٪ وأقل من ١٪ فسفور .

وترتبط الأحماض الأمينية المكونة للبروتينات مع بعضها بواسطة روابط تسمى بالبتيدات **Peptides (-CO - NH<sub>2</sub> -)** .

تقسم الأحماض الأمينية تبعاً لعدد مجموعات الأمين والكربوكسيل والمجاميع الألكيله (R) وعددها عشرون حامض أميني إلى ما يلي : -

(١) أحماض أمينية قاعدية **Basic amino acids** .

(٢) أحماض أمينية حامضية **Acidic amino acids** .

(٣) أحماض أمينية متعادلة **Neutroal amino acids** .

وتشمل الأحماض الأمينية القاعدية على الأرجنين والليسين ويدخلان في تركيب البروتينات النووية المسماة بالهستونات، وعادة تحتوي هذه المجموعة على مجموعتين من الأمين ومجموعة واحدة من الكربوكسيل .

أما الحامضية فتحتوي على مجموعتين من الكربوكسيل ومجموعة واحدة فقط من الأمين وعادة توجد في الأنسجة على هيئة أميدات **Amides** مثل حامض الجلوتاميك يكون على صورة جلوتامين وحامض الأسبارتيك يوجد على صورة أسباراجين **Asparagine** أما المتعادلة فتكون كما يلي :

## (أ) عطرية Aromatic

مثل الفينيل، الأتيل والتيروسين .

## (ب) كبريتية Sulphuric

مثل الميثيونين وهو الحامض الأميني البادئ في عملية صناعة البروتين في خلايا بدائية النواة ( البكتيريا ) وخلايا حقيقية النواة ( الخلايا الحيوانية والنباتية ) .

كما تشمل على الحامض الأميني الـ Cystine والـ Cysteine .

(ج) أحماض أمينية ألفاتية Aliphatic وهي التي تحتوي على مجموعة أمين واحدة ومجموعة كربوكسيل واحدة ومنها الكلايسين والفالين والأتيل وليوسين .

(د) أحماض أمينية هيدروكسيلية مثل السيرين والثريونين .

(هـ) الحلقية غير المتجانسة Heterocyclic مثل التريبتوفان والهستادين والبرولين .

بالإضافة إلى ذلك يوجد أكثر من ١٥٠ حامض أميني في الطبيعة وبشكل خاص في الأنسجة النباتية ولكنها لا تظهر في البروتينات وتؤدي وظائف بايولوجية هامة كمركبات وسطية في مسارات الأيض الحيوي، كما توجد بعضها في خلايا الكبد أو القلب، وفي تركيب جدران البكتيريا، وفي تركيب بعض المضادات الحيوية .

## خواص الأحماض الأمينية

- ١- تذوب في الأحماض والقواعد .
- ٢- قابلية ذوبان أغلبها في الماء عدا التيروسين والسيستين .
- ٣- لها القدرة على التفاعل مع مواد مختلفة لأنها تحمل :

أ- مجموع الأمين ب - مجموعة الكربوكسيل ج- مجموعة الالكيلية .  
تفاعل مجموعة الأمين مع الاحماض فتكون املاح كما تتفاعل مجموعة الكربوكسيل مع القواعد لتكوين الاملاح ايضاً .  
التفاعلات اللونية :

(١) تتفاعل مع النيهيدرين **Nin - hyrin** لتكوين مركب ازرق اللون  
(٢) يتفاعل الارجنين ( مجموع جوانيدو **Guanido group** )  

$$\begin{array}{c} \text{C} \\ \parallel \\ \text{NH} \end{array}$$

مع ألفا - ناثول **&-Naphthol** مكونا لونا احمر . ويسمى بتفاعل سكاغوشي **Sakaguchi** .

(٣) تفاعل التيروسين ( مجموعة الفينول ) مع نترات ونترت الزئبق تعطي لون احمر بالحرارة ويسمى بتفاعل ميلون **Millon** .

### الببتيدات

**Peptides**  

$$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \\ \parallel \quad | \\ - \text{C} - \text{N} - \end{array}$$
  
 ترتبط الاحماض الامينية مع بعضها البعض بواسطة روابط بيتدية  
 بعد فقدان جزئية ماء **H<sub>2</sub>O** حيث ترتبط مجموعة الأمين لحامض اميني مع  
 مجموعة الكربوكسيل لحامض اميني آخر وعند اضافة احماض امينية اخرى فانه  
 يتكون عن ذلك عديد الببتيدات **Polypeptides** ويحتوي الحامض الاميني  
 الاول على مجموعة أمين حرة والحامض الاخير في السلسلة يحتوي على مجموعة  
 كاربوكسيل حرة .

وجزي البروتين الناتج يتكون من سلاسل عديد الببتيدات التي قد تكون  
 مستقيمة او حلزونية او ملتفة . تحدث هذه العمليات اثناء عملية تخليق البروتين على



الرايبوسومات في الخلية ( والتي سيأتي الحديث عنها في الفصول القادمة ) ويكون تسلسل الاحماض الامينية طبقاً للشفرة التي تحصل من قبل الحامض النووي DNA.

ترتبط سلاسل عديد البيبتيدات في جزئي البروتين بالروابط التالية :  $\begin{matrix} O \\ || \end{matrix}$

- (أ) - الروابط الهيدروجينية وتتم بين مجموعة أمين مع مجموعة كاربونيل -H -
- (ب) - الروابط ثنائية الكبريت ( S-S ) كما هو موجود في الجلوتاثيون **Glutathion** وهو عبارة عن بيتيد ثلاثي احماض امينية ( كلايسين والسيستين وحامض الجلوتاميك ) ويرجع نشاطه الى مجموعة **Sulfhydryl-SHC** نتج الروابط ثنائية الكبريت عند اتحاد جزئين من السيستين بالاكسدة السيستين **Cystine**.

اكسدة



اختزال

تلعب هذه الروابط دوراً مهماً في ثبات التركيب الثلاثي للبروتينات .

(٣) رابطة الاملاح : **Salt - linkage** .

تحصل هذه الرابطة بين مجموعات سالبة وموجبة الشحنة على السلاسل الجانبية للاحماض القاعدية والحامضية في التركيب الثلاثي للبروتينات .

التركيب البنائي للبروتينات .

إن بناء جزئي البروتين له اربعة مستويات **Levels** هي :

١- البناء الاولي : **Primary Structure**

ويتحدد هذا البناء بنوع وعدد الاحماض الامينية وتتابع ترتيبها في السلسلة البيبتيدية .

وقد درس تتابع الاحماض الامينية في هورمون الانسولين المفرز من قبل خلايا البنكرياس بواسطة العالم سانجر وزنه الجزيئي ٥٧٣٣ دالتون ويتكون من سلسلتين ببتيديتين متصلتين مع بعضهما بواسطة رابطة ثنائية الكبريت ويكون شكلها خطي وكذلك انزيم رايبونيوكليز .

## ٢- البناء الثانوي: Secondary Structure

وهو المستوى الذي يتعلق بوضعية التركيب التكويني Conformation للسلاسل الببتيدية وهو يمثل التفاف هذه السلاسل بشكل حلزوني Helix ويثبت هذا البناء عدد من الروابط اهمها الروابط الهيدروجينية ويتخذ الشكل الحلزوني عدد من النماذج .

### ١- حلزون الفا $\alpha$ -Helix

ويتميز بوجود ٣٫٦ وحدة حامض اميني لكل دورة والمجاميع R تبرز للخارج .

#### ب- الصفحة المطوية

ترتب سلاسل الببتايد بعضها على بعض لتكون اشكالاً يطلق عليها الصفائح المطوية .

### ٣- البناء الثالثي .

يتضمن التركيب الثالثي للبروتينات ابعاد ثلاثية للبروتين الكروي والذي ينتج عن المجاميع الجانبية مع بعضها حيث تكون سلسلة الببتيدات مطوية بشدة وترتبط مع بعضها بواسطة . روابط الهيدروجين - روابط ثنائي الكبريت - روابط أيونية وقوى فاندرفال .

### ٤- البناء الرباعي .

وهو ترابط مجموعة الوحدات الثانوية للبروتين سواء كانت متشابهة أم غير متشابهة مثل جزيئة الهيموكلوبين .

### طرق تقدير كمية البروتين :

- أ- طريقة كلدال : وتم بواسطة هضم البروتين بواسطة حامض الكبريتيك المركز وضرب الناتج في ٦.٢٥ .
- ب- تقدير البروتين بعد الاستخلاص بالامتصاص للأشعة فوق البنفسجية عند طول موجة ٢٨٠ نانوميتر .
- ج- طريقة بيرويت : وهي تفاعل البروتين مع كبريتات النحاس بوجود قاعدة قوية مثل **NaOH** فيتكون محلول بنفسجي يمتص عند طول موجة ٥٧٠ نانوميتر .
- د- طريقة كيوكالتو - فولن : وهي طريقة لونية ينتج عنها لون أزرق يمتص الأشعة عند ٧٥٠ نانوميتر، وهي أكثر حساسية من طريقة بيرويت .

### تقسيم البروتينات Classification Of Protein

تشكل البروتينات المكون الأساسي للخلايا الحيوانية والنباتية والبكتيريا تركيباً ووظيفة فهي تقوم بتحفيز التفاعلات البيوكيميائية المختلفة في الخلايا كإنزيمات كما أنها تنظم هذه التفاعلات كهورمونات وتوجد ضمن أغلفة الخلايا وتدخل في تركيب عضيات الخلية في النواة والميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء وغيرها .

#### أ- تقسيم البروتينات حسب التركيب

- ١- البروتينات البسيطة **Simple Protein** وتشمل على :
- الألبومين **Albumin** ويشكل زلال البيض ويوجد في مصل ( سيرم ) الدم ويذوب في الماء .
- الكلوبين **Globin** توجد في الدم ومنها الأجسام المضادة **Antibodies** المناعية لا تذوب في الماء وإنما بمحاليل الأملاح المخففة .

- الهستونات **Histones** وهي بروتينات قاعدية تحتوي على الأرجنين واللايسين توجد في الخلية متحدة مع الاحماض النووية مشكلة البروتينات النووية **Nucleo Protein** تذوب في الماء .
- القرنيات **Scleroproteins** لا تذوب في الماء مصادرها حيوانية فقط لا تذوب في الماء توجد على شكل كيراتين **Keratin** (في الشعر والجلد والاذافر) .

## ٢- البروتينات المقترنة: **Conjugated Proteins**

- البروتينات الدهنية **Lipoproteins** توجد في أغلفة جميع انواع الخلايا وفي بلازما الدم .
- البروتينات النووية **Nucleoproteins** وهي التي توجد متحدة مع الاحماض النووية في انوية الخلايا مثل الهستونات والبروتامين .
- البروتينات الملونة **Chromoproteins** ترتبط هذه البروتينات مع مواد ملونة كما في الهيموكلوبين .
- البروتينات السكرية **Glycoprotein** وهي بروتينات بسيطة متحدة مع السكريات ومنها الهيبارين **Heparin** الذي يمنع تجلط الدم في الاوعية الدموية والميوسين الموجود في الالعاب . كما توجد على السطح الخارجي لاغلفة الخلايا وتلعب دوراً هاماً في كثير من وظائف هذه الاغلفة .
- البروتينات الفوسفاتية **Phospho proteins** وهي بروتينات بسيطة متحدة مع حامض الفسفوريك وتوجد في الكازين الموجود في الحليب والفيثالين في صفار البيض .

ومن حيث الشكل تقسم البروتينات الى :-

- ١- بروتينات ليفية **Fibrous proteins** وهي التي تظهر بشكل اليف لا

تذوب في الماء كما في بروتينات الصوف والشعر والحرير الطبيعي والفايرين في الدم.

ب- بروتينات كروية **Globular protein** كما هو الحال في الانسولين (هورمون تنظيم السكر في الدم) والالبومين .

وتقسم البروتينات من حيث الوظيفة الحيوية الى : ١- الانزيمات : والمعروف منها حوالي ٢٠٠٠ وهي حفازات بايولوجية وتعمل على جميع التفاعلات الحيوية داخل الخلايا .

٢- الهورمونات : وهي منظمات كيميائية للافعال الحيوية المختلفة في الجسم .  
٣- الاجسام المضادة : وهي بروتينات مناعية تقوم بتدمير الاجسام الغريبة والجراثيم الداخلة للجسم ( وظيفتها دفاعية ) .

- ٤- بروتينات التقلص : التي تدخل في تركيب الخلايا العضلية .
- ٥- البروتينات التركيبية : التي تدخل في تركيب الانسجة المختلفة .
- ٦- بروتينات الحماية الموجودة في الشعر والصوف والاظافر وغيرها .



## خواص البروتينات PROPERTIES OF PROTEINS

### ١- الخواص الفيزيائية

البروتينات تكون محاليل غروية كما انها لا تنفذ من الاغشية الخلوية نظراً لان اوزانها الجزيئية كبيرة .

ويمكن استخراج اوزانها الجزيئية بعدة طرق منها :

أ- من العناصر المكونة لها

فمثلاً الهيموكلوبين يحتوي على عنصر الحديد والذي يقدر بـ ٣٤ %

الوزن الذري للحديد = ٥٦

$$\begin{aligned} & \frac{\text{الوزن الذري للحديد} \times ١٠٠}{\text{نسبة الحديد في الهيموكلوبين}} \\ & = \frac{٥٦ \times ١٠٠}{٣٤} = ١٧٠٠٠ \text{ حوالي} \end{aligned}$$

وبما ان الهيموكلوبين يحتوي ٤ ذرات حديد

فإن الوزن الجزيئي = ١٧٠٠ × ٤ = ٦٨٠٠٠ دالتون

### ٢- الخواص الكيميائية

البروتينات مواد امفوتيرية فهي تسلك كحوامض بالنسبة للقواعد وتسلك كقواعد بالنسبة للاحماض فهي ذات شحنة موجبة في الوسط الحامضي وسالبة في الوسط القاعدي .

### ٣- الذوبان : Solubility

لا تذوب في الكحول وترسب في الاحماض المركزة والقواعد المركزة وعند نقطة التعادل الكهربائي **Isoelectric point** فإن درجة الذوبان تكون على أقلها وبسهولة ترسب وتتجلط بالحرارة .

#### ٤- التفاعلات اللونية : Colour Reaction

اهم التفاعلات اللونية عدا التي ذكرت بالنسبة للاحماض الامينية  
تفاعل بايوريث **Biuret** تعطي لون بنفسجي وهو عام لجميع البروتينات .  
تفاعل **Ninhydrin** للبروتينات والبيبتيدات والاحماض الامينية يعطي لون  
أزرق .

#### تغيير طبيعة البروتينات Denaturation

الدثرة هي تغيير الخصائص الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية للبروتين عن حالته  
الطبيعية بفعل عوامل معينة دون تكسير الروابط الببتيدية ويتحول الى تركيب غير  
منظم ويتغير بنائه الدقيق ويفقد خواصه البيولوجية .

والعوامل التي تسبب الدثرة هي :

١- عوامل فيزيائية : مثل الحرارة المرتفعة والضغط العالي أشعة X والاشعة  
فوق البنفسجية ( U V ) .

٢- عوامل كيميائية : كالاحماض القوية والقواعد القوية واملاح المعادن الثقيلة  
واليوريا .

التأثيرات المرافقة لعملية الدثرة :-

١- نقصان درجة ذوبان البروتين ولزوجته .

٢- زيادة تحلله المائي بالانزيمات .

٣- فقدان النشاط الحيوي ( الانزيمات أو الهرمونات ) .

٤- تكسر الاواصر الهيدروجينية .

٥- زيادة نشاط مجاميع (-SH) (-S-S-) ومجاميع الهيدروكسيل الفينولية .

٦- فقدان خاصية التبلور .

## استخلاص وتنقية البروتينات ISOLATION AND PURIFICATION OF PROTEINS

البروتينات من المكونات الأساسية في خلايا حقيقية وبدائية النواة وفي الفيروسات، وهي نواتج الجينات في عملية تخليق البروتين. وتضم الخلايا الآفاً من البروتينات المختلفة في خصائصها الكيميائية والفيزيائية والبيولوجية.

تستخلص البروتينات من الخلايا بعد تكسيرها بطرق مختلفة ثم تنقيتها وفصلها لدراسة خواصها المختلفة وربط علاقة التركيب مع الوظائف فهناك بروتينات الأغشية الحيوية **Biomembranes** وبروتينات النواة وبروتينات العضيات السيتوبلازمية مثل الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء وغيرها من العضيات.

ويتم استخلاص البروتينات بطرق عديدة وإسقاطها الطحن بالرمل أو باستخدام المنظفات **Detergent** التي تعمل على تكسير الاواصر بين البروتين وبين الدهون أو بينه وبين المعادن المتحددة معه.

ومن أكثر أنواع المنظفات المستخدمة هو **Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)** أو يتم بترسيب البروتينات بواسطة المذيبات بإزالة الماء منها ويتم ذلك باستخدام الأملاح مثل كبريتات الأمونيوم أو المذيبات العضوية مثل الأسيتون والايثانول أو فصلها بطريقة الفصل الغشائي (الديليزة) **Dialysis**.

ويتم الكشف عن نقاوة البروتينات بطرق عديدة:

١- قابلية الذوبان ٢- الترحيل الكهربائي ٣- طرق الفصل الكروماتوغرافي

مثل:

١- الترشيح الهلامي **Gel Filtration**.

ب- الغربال الجزيئي **Molecular Sieve Chromatography**.

وتستعمل في هذه الحالة مواد السفادكس **Sephadex** او **Polyacrylamide** او **Agarose**

وهذه ذات درجات مختلفة المسامية وبما أن البروتينات ذات اوزان جزيئية مختلفة لذا فهي تتحرك في العمود بسرعات مختلفة .

### **الترحيل الكهربائي : Electrophoresis**

بما ان البروتينات مزدوجة الشحنة فهي سالبة وموجبة وبحسب درجة الـ **PH** فالبروتينات ذات الشحنة السالبة تتحرك باتجاه القطب الموجب والموجبة تتحرك الى القطب السالب . ودرجة ترحيلها يعتمد على اوزانها الجزيئية وشحنتها الكهربائية بطريقة الهجرة الكهربائية **Electrophoresis** .

ومن ثم يتم توضيح اشربة البروتينات المفصولة برشها بواسطة صبغات معينة لتحديد مواقعها ودراسة خواصها البيوكيميائية والبيوفيزيائية .

## الفصل الثامن

### التعبير الجيني





## **التعبير الجيني**

### **GENE EXPRESSION**

المبدأ الاساسي **Central dogma** للوراثة الجزيئية هو ان المعلومات الوراثية تتحرك وتنتقل بطريقتين هما :

- ١- من الـ **DNA** الى الـ **DNA** بعملية التضاعف **Replication** والتي تنتقل من جيل الى جيل **Genotype** .
- ٢- من الـ **DNA** الى الـ **RNA** الى البروتين خلال التعبير المظهري في كائن حي **Phenotype** .

ان عملية نقل المعلومات الوراثية من الـ **DNA** الى الـ **RNA** الى البروتين

### **DNA to RNA to PROTEIN**

او تخليق البروتين **Protein Synthesis** تتطلب :

- ١- عملية الاستنساخ **TRANSCRIPTION** وهي عملية نقل المعلومات الوراثية من الـ **DNA** الى الـ **RNA**
- ٢- الترجمة **TRANSLATION** وهي نقل المعلومات من الـ **RNA** الى البروتين .

وقد تكلمنا عن عمليات الاستنساخ للاحماض الرايبوزية الثلاثة في الفصل السابق يمكن الرجوع اليها .

تعتبر جزيء الـ **DNA** احدى المكونات الوراثية الاساسية للخلايا الحية حيث تحمل هذه الجزيئة معلومات بصور شفرة وراثية **Genetic Code** تنقل من خلية الى اخرى ومن كائن حي الى كائن حي اخر . ويتم ذلك عن طريق مادة وسيطة بين المادة الوراثية والبروتين والتي تعرف بالـ **الرنا الرسول** .

تجهز الطاقة في بناء البروتين من التحلل المائي للـ ( GTP ) ووجود أيونات المغنيسيوم (  $Mg^{++}$  ) وتتضمن ثلاثة مراحل هي :

١- **Initiation** و تشمل على :

- أ- تنشيط الاحماض الامينية **Activation Of Amino Acids** .
- ب- تكوين مركب معقد بين **m-RNA** ووحدات الرايوسومات .

٢- **Elongation** الاستطالة وتتضمن على :

- أ- تكوين سلسلة **Poly peptide** المبدئية ( الاولى ) .
- ب- اطالة السلسلة **Chain Elongation** .

٣- **Termination** الانتهاء و تشمل على :

- أ- انتهاء وتحرر السلسلة **Poly peptide** .
- ب- تفكك معقد الرايوسوم - الرنا الرسول .

**أولاً : مرحلة البدء**

تساهم مجموعة من العناصر البروتينية والانزيمية الى جانب عناصر الترجمة في تكامل الدورة لتعطي في النهاية السلسلة الببتيدية المطلوبة والتي لا تلبث ان تأخذ ابعادها الفراغية لتشكل البروتين المطلوب .

خلال عملية التنشيط تستخدم طاقة الـ **ATP** لغرض ضم او اتحاد جزيئات الـ **t-RNA** مع جزيئات الاحماض الامينية . حيث يوجد اكثر من عشرون نوع مختلف والاختلاف بينها ناتج من تكرار النكلوتيدات في الكودون المقابل **Anti Codon** .

يبدأ عامل بروتيني الموجود على سطح الوحدة الصغيرة **S-Subunit** في الرايوسوم بربط الرنا الناقل المحمل بالحامض الاميني المنشط الميثيونين - الفورميلي (**F-meth For my.tRNA**) في بداية النواة على الوحدة الصغيرة (**30S**) مقابلاً للرنا الرسول كآول حامض اميني في السلسلة البيبتيدية ويتم ذلك بتحفيز الانزيم **Aminoacyl-RNA synthetase** ( كذلك يتم ذلك في الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء في حقيقة النواة ) .

ثم ترتبط الوحدة الكبيرة للرايوسوم مع الوحدة الصغيرة بفعل عامل بروتيني آخر ويتشكل معقد الترجمة (**70S**) .

وتأتي الطاقة اللازمة لتشكيل المعقدين من التحلل لجزيئة **GTP** ثم تبدأ الترجمة . لاحظ الشكل ( ) .

وبوجود عوامل بروتينية للبدء (**1-2-3 Initiation Factors**) ومن الجدير بالذكر فإن في حقيقة النواة تبدأ بالحامض الاميني الميثيونين **Meth** غير الفورميلي .

### ثانياً : الاطالة

تنقل الاحماض الامينية المنشطة الى المكان (**A**) على سطح الرايوسوم اما الموقع (**P**) فيكون مشغولاً من قبل الرنا الناقل لحامض الميثيونين الفورميلي وبمساعدة الشفرة المقابلة **Anti Codon** تنقل على **m-RNA** الذي يحمل الشفرة المكملة وبوجود طاقة **GTP** ترتبط مجموعة الامين للحامض القادم مع مجموعة الكاربوكسيل للحامض الاميني ( الميثيونين ) ويتشكل الرابطة البيبتيدية ينفصل الرنا الناقل من الموقع (**P**) ويصبح حراً والذي يستطيع ان يعود محملاً مرة اخرى بالحامض الاميني الاخر وهكذا يدخل كودون جديد الى الرايوسوم ويجذب رنا ناقل جديد وعادة تكون مجموعة الامين حرة في الحامض الاميني الاول بينما تكون

مجموعة الكاربوكسيل حرة في نهاية السلسلة . وتحدث بوجود عوامل بروتينية  
للاطالة **(EF) Elongation Factors** .

### ثالثاً : الانتهاء

بعد عملية الترجمة على **m-RNA** ( قراءة المعلومات الوراثية المحمولة على  
الرنا الرسول المرتبط على الرايوسومات وبفعل **t-RNAs** تشكل البروتينات )  
بعدها تتوقف العملية ثم يحصل انفصال للبروتين المتكون المبرمج وذلك بتحلل  
الرابط بين الحامض الاميني الأخير والـ **t-RNA** . وبوجود بروتينين التحرر (١-  
**Release Factors** (٢ وبعد تحرر البروتين يتحرك اما الى داخل الساييتوبلازم  
حيث يستعمل داخلياً في الخلية او يتحرك الى الشبكة الاندوبلازمية **ER** للافراز  
الخارجي .

ان عملية صناعة البروتين تكاد تكون متشابهة في جميع الخلايا الحية البدائية  
وحقيقية النواة، ولكن العلاقات المكانية والزمانية تكون مختلفة :  
ففي بدائية النواة فإن عمليتي النسخ والترجمة تحدثان في نفس المكان وفي نفس  
الوقت ( لعدم وجود غشاء يفصل النواة ) .  
اما في حقيقية النواة فالعمليتين تكون منفصلتين في الزمان والمكان . فعملية  
الاستنساخ تحدث داخل النواة اولاً وتحدث المعالجة ثم تهاجر الى الساييتوبلازم الذي  
تحدث فيه عملية الترجمة (صناعة البروتين ) .

### أهمية البروتينات :-

أن اهم وظيفة للجينات هي السيطرة على تركيب البروتينات وهذه البروتينات  
قد تكون بروتينات تركيبية أو انزيمات أو اجسام مضادة **Antibodies** او



هورمونات وبذلك فهي تسيطر على تنظيم وضبط مراحل النمو والتشكل والحجم ووقت النضج ومعدل التكاثر وآليات الدفاع والمناعة وثبات درجة الحرارة والقدرة على التفكير الخ .

وبما ان الخلية تحتوي على مركبات اخرى مثل الكربوهيدرات والليبيدات وغيرها من المواد والتي تعتبر ذات أهمية حيوية بالغة للخلية ولوظائفها فإن التركيب الحيوي لمثل هذه المركبات يخضع كذلك للسيطرة الوراثية من خلال فعل الانزيمات وان آلية التركيب الحيوي لهذه المركبات خاضع بصورة غير مباشرة للـ DNA .

### الشفرة الوراثية : GENETIC CODE

يحمل الرنا الرسولي الشفرة الوراثية من الدنا لاختيار التابع الصحيح للأحماض الامينية لصناعة البروتين . وتتألف الشفرة من تتابع ثلاث قواعد نتروجينية **Triplet Code** وبما انه هناك اربع قواعد فإن العدد الذي يحصل من الشفرات يبلغ ٦٤ شفرة مختلفة (٣) وهذا العدد يفوق عدد الاحماض الامينية التي يبلغ عددها عشرون حامضاً أمينياً .

والشفرة الواحدة تخص حامضاً أمينياً معينا دون غيره .

والجدول التالي يوضح الشفرات الثلاثية والاحماض الامينية الخاصة بها .

GGA	GG C	G CG	GCU	كلايسين
ACA	ACC	ACG	ACU	ثريونين
CGA	CGC	CGG	CGU	الأرجنين
AUG	البادي	-	-	الميثونين
UAC	UAU			التايروسين
UUC	UUU			فينيل الانين

## تنظيم صناعة البروتين

## REGULATION OF PROTEIN - SYNTHESIS

تتغير كمية البروتينات الموجودة في الخلية وأنواعها أثناء تطورها ونموها وكذلك استجابة للتغيرات في عملياتها الأيضية ويتم هذا التغيير جزئياً بواسطة اما :

١- الحث ( التحريض ) **INDUCTION**

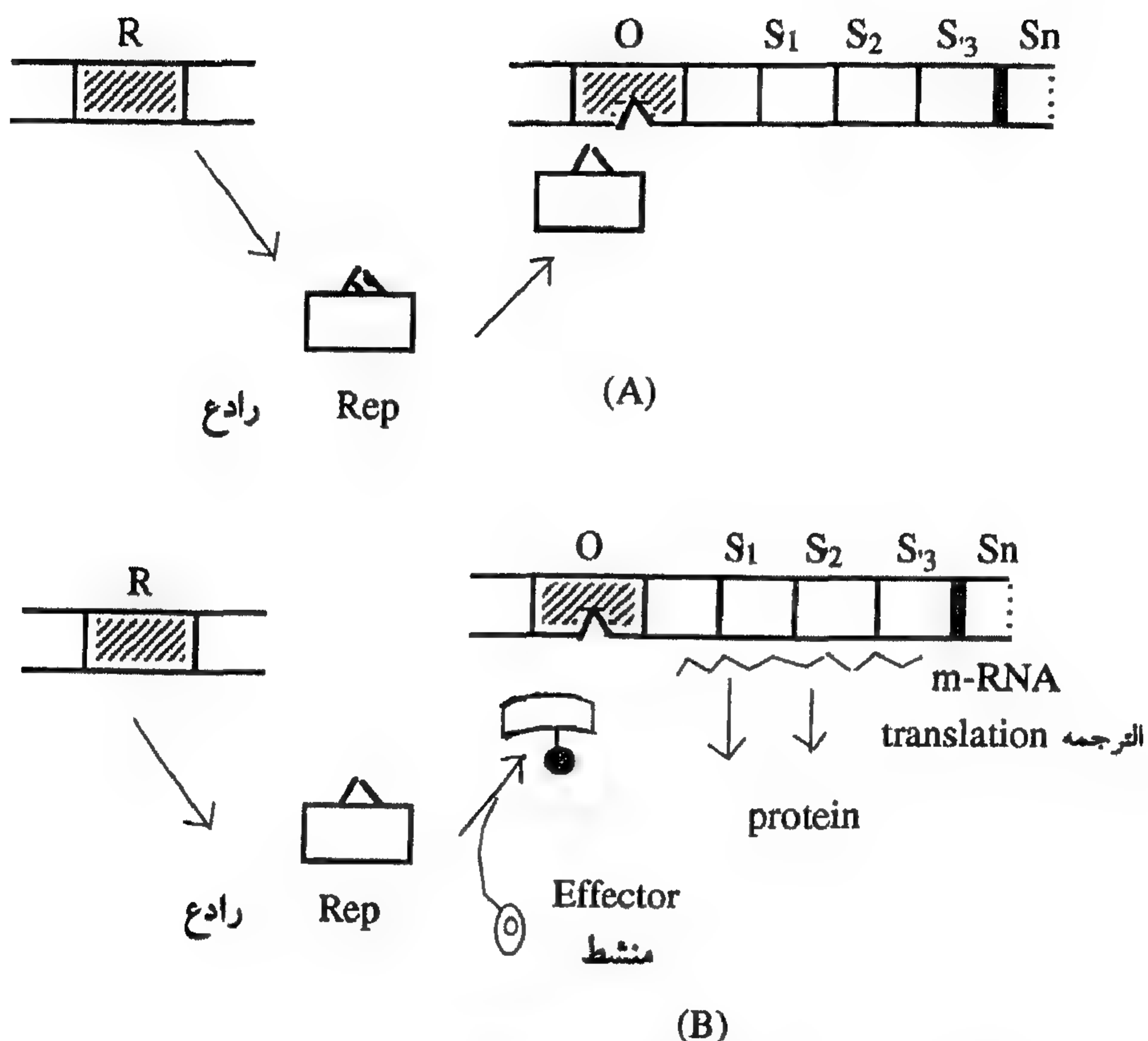
٢- الردع ( الكبح ) **REPRESSION**

والمنظم لآلية بناء البروتين كما يتم جزئياً أيضاً بواسطة التغير في معدلات تحطم البروتين في الخلية بفعل انزيمات التحلل للبروتينات .  
وهكذا توجد حالة من التوازن الديناميكي اذ يحدد كمية اي نوع معين من البروتين المعدلات النسبية لبنائه وتحطمه .

ويأتي الكثير من المعلومات الحالية عن تنظيم بناء البروتين من تجارب جاكوب وموناد (Jacob and Monod) عام ١٩٦١ الذين وضعوا نموذج الاوبرون **Operon - Model** الذي يوضح الاساس الوراثي في الحث او الردع للانزيم في خلايا البكتيريا المعوية **E.Coli** حيث استخدموا هذه البكتيريا لدراسة بناء الانزيمات الداخلة في عملية هدم سكر الحليب **Lactose (LAC OPERON)** .  
تحتوي الخلايا الطبيعية التي تنمو بغياب اللاكتوز على كميات قليلة من انزيم اللاكتيز **Lactase** وهو انزيم محرض كما يفقد غلاف الخلية انزيم **Permease** وهو ضروري لنقل السكر الى الخلية .

ترتبط عدة اجزاء وظيفية من الـ **DNA** الخلية مع بعضها لتكوين وحدة الـ **Operon** لها القدرة على انتاج **m-RNA** اللازم لاستنساخ كل من اللاكتيز والبرميز **Permease** وفي الحالة الاعتيادية لا تؤدي هذه الجينات وظيفتها وذلك

بوجود بروتين خاص يعرف بالبروتين الرادع **Repressor Protein** ويوجد بالقرب من الموقع الموجة للأوبرون الشفرة اللازمة لبناء البروتين الرادع في موقع آخر من الـ **DNA** الجين المنظم **Regulator Gene** والشكل التالي (٨-١) يوضح عمل الاوبرون :



**R** = الجين المنظم **Regulator Gene**  
**O** = الجين المسير للعمل **Operator Gene**  
**S1 - Sn** = الجينات التركيبية **Structural Genes**  
**REP** = الرادع **Repressor**  
**EFF** = المنشط ( المحفز ) **Effector**

ففي الحالة الاولى ( A ) ينجذب الرادع نوعياً ويكون فعال ويرتبط بالجين المسير للعمل وبذلك يمنع انزيم النسخ **RNA - Polymerase** وبذلك تتوقف عملية ظهور النسخ والانزيم في الوسط الخلوي ويردع تكون البروتين ويسمى بالرادع .  
اما عندما يرتبط الرادع مع المنشط ( المادة الايضية ) فإنه يتحول الى شكل غير فعال وهنا يقوم انزيم المسير للعمل بتكوين انزيم النسخ الذي يصل الى جينات التركيب وتقوم بتكوين **m-RNA** ثم الترجمة لتكوين الانزيم (البروتين) وهذا يسمى بالتحريض .

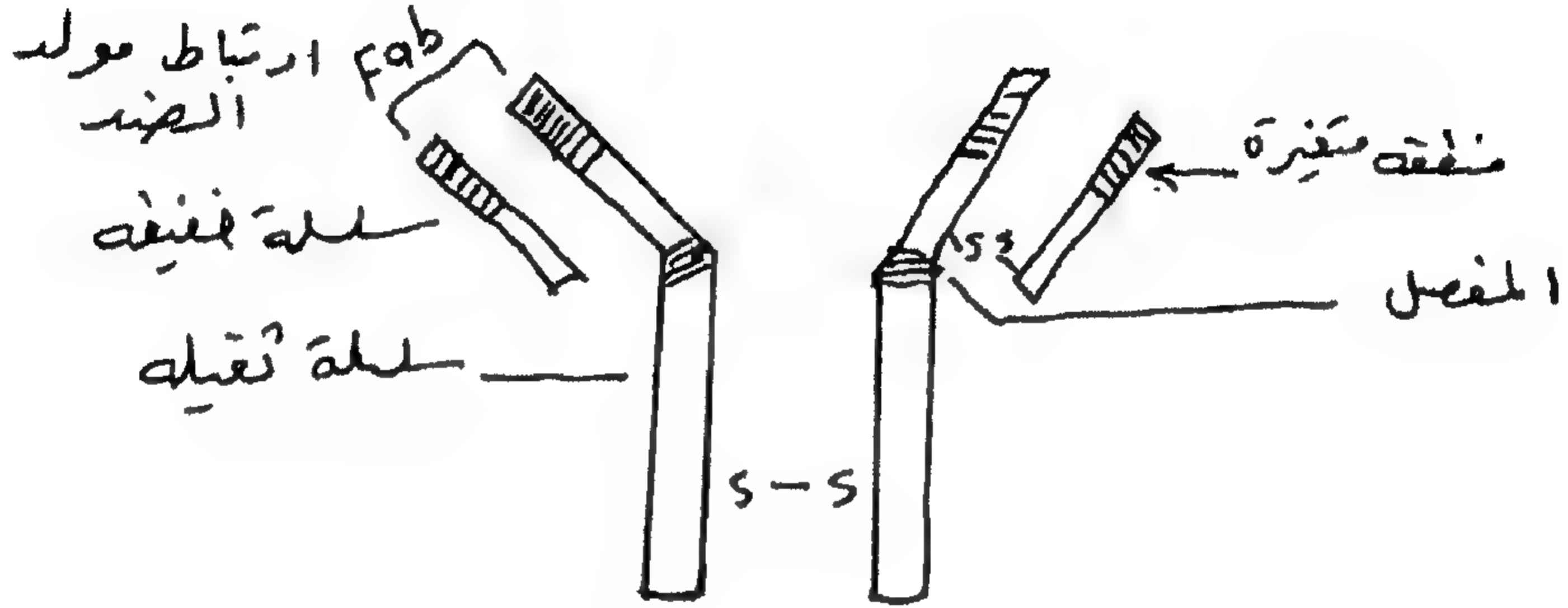
اما في حقيقة النواة فهناك مجموعات تنظيمية عديدة تتحكم في تنظيم عمل الجينات مكانياً وزمانياً وهناك ادلة لآليات تنظيمية تعمل على مستوى الاستنساخ وهي هامة عند نمايز الخلايا .

### التعبير الجيني في تركيب الاجسام المضادة

#### GENETIS CONTROL OF ANTIBODY SYNTHESIS

تعود الاجسام المضادة **Antibodies** الى نوع من البروتينات المعروفة بالكلوبيولينات المناعية **Immunoglobulins** وكل جسم مضاد يتكون من اربعة سلاسل بيتيدية كل سلسلتين منهما متماثلتين يطلق عليهما السلسلتين الخفيفتين والسلسلتين الثقيلتين فالخفيفة تتكون من حوالي ٢٢٠ حامض اميني اما الثقيلة فتتكون من حوالي ٤٤٠ حامض اميني .

وترتبط هذه السلاسل مع بعضها بواسطة روابط ثنائية الكبريت (S-S) حيث ترتبط سلسلة خفيفة مع سلسلة ثقيلة وترتبط السلسلتين الثقيلتين مع بعضهما ايضاً برابطة ثنائية الكبريت . كما في الشكل (٨-٢) .



وعلى نهاية الساق يوجد ما يعرف بالمنطقة التي ترتبط بمولد الضد **Antigen** ولكل سلسلة منطقة متغيرة تتغير فيها تكرار الاحماض الامينية حسب نوع مولد الضد ومنطقة ثابتة حيث يكون في تكرار الاحماض الامينية متشابه في جميع الاجسام المضادة .

تقسم البروتينات المناعية الى خمس انواع حسب تركيب السلسلة الثقيلة والوزن الجزيئي والخصائص الكيميائية ويطلق عليها **IgE , IgD , IgM , IgG , IgA** .

وقد تم باستخدام تقنية اعادة اتحاد الـ **DNA** من تشفير سلاسل الببتايد للاجسام المضادة من قطع الـ **DNA** الكروموسومية وتخلق كل سلسلة من الاجسام المضادة باستخدام المعلومات المخزونة في الجينات او قطع من الجين .





## **الفصل التاسع**

### **الطفرات**

### **الاساس الجزيئي**



## الطفرة

## Mutation

وهي تغيير في المادة الوراثية أي تغيير في عدد وتتابع النكليوتيدات . وقد يكون التغيير في عدد الكروموسومات أو تغيير في تركيب الكروموسوم والذي يطلق عليها بالانحرافات الكروموسومية . أما التغيير في الجين المفرد (تغيير الـ DNA ) قد يكون التغيير في زوج واحد من القواعد النيتروجينية بإضافة زوج أو بنقصان زوج وتسمى بالطفرة النقطية **Point Mutation** والتي عن طريقها تتولد مورثات (جينات ) مقابلة ( الالبيلات ) .

تعتبر الطفرات ظاهرة مهمة حيث انها تمكن الكائنات الحية من التطور والتكيف للتغيرات البيئية .

تقسم الطفرات الى قسمين :

### ١- الطفرة التلقائية Spontaneous Mutation

وهي التي تحدث دون معرفة السبب وقد تنتج من تغيير في مستوى الايض نتيجة خطأ في تضاعف الدنا أو نتيجة لوجود بعض المواد المطفرة في بيئة الكائن الحي ويتج التطفر في الدنا الجديد .

وقد تحدث في خلية بكتيريا واحدة من عدة ملايين من الخلايا .

### ٢- الطفرة المستحثة Induced Mutation

وهي الناتجة من تعرض الكائن الحي الى بعض المركبات المطفرة **Mutagenic Agent** مثل الاشعاعات وبعض المواد الكيميائية التي تتفاعل مع المادة الوراثية الدنا ( أو الرنا في بعض الفيروسات ) ومن الجديد بالذكر فإن الفرعين لا يختلفان الا في التكرار حيث تحدث الطفرات المستحثة بمعدل اكبر .

وقد تحصل الطفرة في الخلايا الجسمية **Somatic Cells** اثناء الدورة

الخلوية وهي اما متغلبة او متنحية فإذا كانت متغلبة فيحصل تغيير في النمط المظهري. اما اذا حدثت الطفرة في الخلايا التكاثرية **Germ Cells** والتي قد تحدث في اي مرحلة من مراحل تكاثر الكائن الحي والتي تنتقل من جيل الى جيل اخر اذا كانت متغلبة .

تقسم الكائنات الحية المطفرة **Mutants** الى ثلاثة اقسام :

١- السلالات المتطفرة ناقصة التغذية **Auxotrophic** وهي السلالات التي ليس لها القدرة على تخليق بعض المركبات الايضية الاساسية ( مثال الاحماض الامينية او الفيتامينات او النكليوتيدات ) والتي تخلق بشكل كامل في السلالات البرية .

٢- السلالات المتطفرة الحساسة للحرارة **Temperture Sensetive** وهي السلالات التي تستطيع ان تنمو جيداً تحت درجات حرارية معينة ولا تستطيع النمو تحت درجة حرارية اخرى وقد تكون حساسة للحرارة - **Heat Sensetive** او تكون حساسة للبرودة **Cold - Sensetive** حيث تتأثر بعض الانزيمات .

٣- السلالات الحساسة للكتم او الاخمد **Suppressor Sensetive** وهي السلالات القادرة للنمو عندما يكون عامل وراثي ثانوي موجود **Asurppressor** ولكنها تفقد القابلية للنمو عند غياب هذا العامل .



## الاساس الجزيئي للطفرة

## THE MOLECULAR BASIS OF MUTATION

ان حدوث الطفرة على المستوى الجزيئي يعني تغيير في تعاقب او تسلسل النكليوتيدات ضمن جزيء الـ DNA كما اشرنا سابقاً وهذا التغيير من شأنه ان يحور المعلومات التي يحتويها الحامض النووي وبذلك يحصل تحوير في البروتين المبرمج مختلف من ناحية تسلسل الاحماض الامينية فقد يفقد وظيفته اذا كان انزيمياً مثلاً .

لقد تمكن واطسن وكريك من وصف التركيب الحلزوني المزدوج للدنا واقترحا التضاعف نصف المحافظ على اساس القواعد النيتروجينية وانتقال هذه المعلومات من جيل الى اخر واقترحا ايضاً الطفرة التلقائية كما اوضحنا ان تركيب القواعد غير ثابت ويمكن ان تتحول الروابط الهيدروجينية من موقع الى موقع اخر للبيورينات والبريميدينات . وقد اطلق على هذه التذبذبات الكيميائية بالانحرافات التوتومرية **Tautomeric Shifts** وهي نادرة الحدوث . والطفرات الناتجة عنها تتطلب الاستبدال **Substitution** للنكليوتيدات بعضها مع بعض وتسمى بالـ **Transition** من شريط الى الشريط المتعم او تحدث عملية استبدال بيورين الى بريميدين او العكس بالعكس بعملية يطلق عليها **Transversion** اي الاستبدال او قد يحدث فقدان قاعدة نيتروجينية **Deletion** او اضافة او ادخال **Insertion** قاعدة نيتروجينية ويطلق على عمليتي النقصان والاضافة بالانحرافات الهيكلية **Frameshift Mutation** .

## الطفرات الحادثة بفعل الاشعاعات

تقسم الاشعاعات الى نوعين حسب تأثيرها :

١- الاشعاعات المؤينة **Ionizing Radiation** مثل الاشعة **X** (السينية) واشعة  $\delta$  والاشعاعات الصادرة من النظائر المشعة ( $\alpha$  و  $\beta$ ) وهي الاشعاعات التي لها طاقة كبيرة تستطيع اختراق الانسجة وتؤدي الى تأين المادة من خلال طاقتها التي تؤدي الى انطلاق الكترون من الجزيئة من مداره .

### ٢- الاشعة غير المؤينة

مثل الاشعة فوق البنفسجية ( $UV$ ) وهذه الاشعة طاقتها قليلة بحيث تحدث تهيج (اثارة) وفي الجزيئات دون ان تؤدي الى التأين فالجزيئات التي يحدث فيها التأين او الاثارة تكون من الناحية الكيميائية اكثر فعالية من تلك الجزيئات التي هي بحالة مستقرة . ان ازدياد القدرة على التفاعل للجزيئات والموجودة في جزيء الدنا هو اساس التأثير المطفّر للاشعة فوق البنفسجية والاشعاعات المؤينة .

من المعروف ان البيورينات والبريميدينات تمتص الاشعة فوق البنفسجية بدرجة كبيرة واقصى امتصاص يحدث عند طول موجي ٢٥٤ نانومتر . وبما انها اشعة ذات طاقة واطنة فإنها لا تدخل الا الخلايا في المناطق السطحية ( الجلد مثلاً او العين ) في الكائنات الحية عديدة الخلايا بينما تكون مطفرات قوية بالنسبة للكائنات وحيدة الخلية . ويتركز تأثير الاشعة فوق البنفسجية في مساعدتها على احداث انحرافات توتومرية في تراكيب القواعد التروجينية ومن المعروف ان الثايمين يمتص بشكل كبير الاشعة عند طول موجي ٢٥٤ نانومتر ونتيج ذلك يصبح فعال جداً حيث يتحلل مائياً وتتحد ازواج من الثايمين تسمى **Thymine Dimer** وهذا ما يؤدي الى

الطفرة التي تسبب بواسطة هذه الاشعة (U V) . كما في الشكل ( )

ويحدث ذلك اما :

أ- تكوين تلف في الحلزون المزدوج حيث يتداخل عند تضاعفه .

ب- او تحدث تلف مؤقت بحيث ان الخلية لها القدرة على عملية اصلاح التلف في جزئ الـ DNA .

ويعتمد هذا على نوع الكائن الحي وعلى الظروف المستخدمة .

### آليات اصلاح الدنا

### DNA -Repair Mechanisms

تمتلك الخلية الانزيمات التي بمساعدتها تتمكن من اصلاح التلف التي تحدثها الاشعة فوق البنفسجية الا انها تعجز عن ذلك عندما يتم التعرض للاشعة لفترة طويلة حيث يؤدي ذلك الى استبدال قاعدة باخرى في عدة مواقع من جزئ الـ DNA .

تمتلك الكائنات الحية من الفيروسات البكتيرية حتى الانسان على آليات اصلاح التلف . فمثلاً وجد في البكتيريا المعوية ان لها القدرة على اصلاح تلف الـ DNA بثلاثة طرق هي :-

#### ١- التفاعلات الضوئية Photoreactivation

وتتطلب فعل انزيمي حيث تعمل هذه الانزيمات على فصل الثايمين المبلر الشثائي بدون ازالة اي من النكليوتيدات . يرتبط الانزيم في الظلام ويحفز على انشطار الجزيئات بواسطة الضوء وخاصة الازرق .

لذلك ففي التجارب عند استعمال الاشعة فوق البنفسجية كمطفر يجب ان يتم ذلك بالظلام . ومن الجدير بالذكر فإن الانزيم فعال في حالة المبلر الشثائي للسايتوسين كذلك Cytosine - Dimer .

## ٢- الاصلاح بواسطة الحذف : **Excision Repair**

تتطلب هذه سلسلة من الانزيمات التي تحفز عدد من الخطوات فيها يتم ازالة **Thymine Dimer** من جزيء الـ **DNA** ويتكون بدلاً من ذلك قطع جديدة.

وتحدث هذه العملية في الظلام وبوجود الضوء الازرق .

ومن الانزيمات العاملة بهذه الطريقة لاصلاح التلف هي :

١- انزيم **Endonuclease** التي تعمل على تقطيع اواصر الفوسفات ثنائي الاستر في السكر والفوسفات .

ب- انزيم **Polymerase I** الذي له فعالية محللة بالاتجاه (5 ---> 3) (**Exonuclease**)

ج- انزيم الربط **DNA - Ligase** الذي يقوم بربط الاجزاء النهائية بعد عملية الحذف .

٣- اصلاح التلف في نهاية التضاعف واعادة التشكل الوراثي **Postreplication -Recombination Repair** التفاصيل بخصوص هذه العملية غير معروف الا انه يتطلب عملية تضاعف ثم اعادة التشكيل الوراثي .

في الاونة الاخيرة اكتشف انزيم في البكتيريا المعوية **E . Coli** يطلق عليها اسم يوراسيل - دنا كلايوكسيليز **Uracil -DNA - Glycosylase** الذي يعمل بكفاءة لازالة اليوراسيل من جزيء الدنا حيث يقوم بتكسير الرابطة بين القاعدة والسكر ومنها جاء الاسم كلايوكسيليز .

وقد وجد ان البكتيريا الفاقدة لهذا الانزيم تكون اكثر حساسية للعوامل المزيلة للأمين **Deaminating Agents** مثل حامض النتروز **Nitrous Acid**.



## المطفرات الكيميائية CHEMICAL MUTAGENS

توجد العديد من المواد الكيميائية التي لها تأثيرات مطفرة وقد تكون هذه التأثيرات خفيفة او شديدة على المستوى الجزيئي .  
تقسم المطفرات الكيميائية الى قسمين :

١- المطفرات التي لها تأثيرات مطفرة عند عملية التضاعف وغير التضاعف  
للدنا مثل مركبات الالكلة **Alkylating Agents** وحامض النتروز  
**Nitrous Acid** .

٢- المركبات التي تعمل كمطفرات فقط عند مرحلة التضاعف للدنا مثل  
صبغات الاكردين **Acridine Dyes** ومركبات شبيهة القواعد النتروجينية مثل  
**5 - Aminopurine - 2- Bromouracil** التي ترتبط مع الدنا وتؤدي  
الى حصول خطأ في تركيبه ومن الجدير بالذكر فإن تركيز المطفر الكيميائي وفترة  
التعرض له لها تأثيرات في النتائج المتحصل عليها قد تكون قاتلة للخلايا .

حامض النتروز : **Nitrous Acid**

رمزه **HNO<sub>2</sub>** وهو من المطفرات القوية عند تضاعف الدنا او في المراحل  
الآخري غير المتضاعفة .

يعمل هذا الحامض على ازالة مجموعة الامين **NH<sub>2</sub>** من القاعدة النتروجينية  
مثل الادنين والسايكسين والكوانين التي تحتوي على هذه المجاميع حيث تتحول  
مجموعة الامين الى مجاميع كيتونية وبالتالي يؤثر على الروابط الهيدروجينية بين هذه  
القواعد فالادنين يتحول الى مركب يطلق عليه الهيبوزانثين **Hypoxanthine**  
الذي يتزاوج بشكل قوي مع السايكسين بدلاً من الشايمين والسايكسين يتحول الى  
اليوراسيل الذي يتحد مع الادنين بدلاً من الكوانين .



اما الكوانين فانه يتحول الى مركب يسمى زانثين **Xanthine** الذي يتزاوج مع السايروسين وهذا يعني ان  $AT \rightleftharpoons GC$  وبالعكس اي تطفر ثنائي الاتجاه .

### مركبات الالكلية :

تضم هذه مجموعة من المركبات لها فعالية عالية على النكليوتيدات حيث تدخل هذه المركبات في الدنا بدلاً من القواعد التروجينية ومن هذه المواد غاز الخردل والايوكسيدات **Epoxides** ومثيل وايناييل سلفونات (**MMS**) و (**EMS**) وغيرها .

تعمل هذه المركبات على حدوث طفرات الاستبدال والتحول والتغير الهيكلي .

### الهيدروكسيل أمين : **Hydroxylamine**

ورمزه **NH<sub>2</sub>OH** وهو مادة مطفرة نوعية ومحددة اذ ان تأثيره وفعاليته تتم على السايروسين وتتحول  $GC \rightarrow AT$  اي احادي الاتجاه وبسبب نوعيته فإنه اصبح مفيداً لتعيين الطفرات الانتقالية **Transition Mutations** .

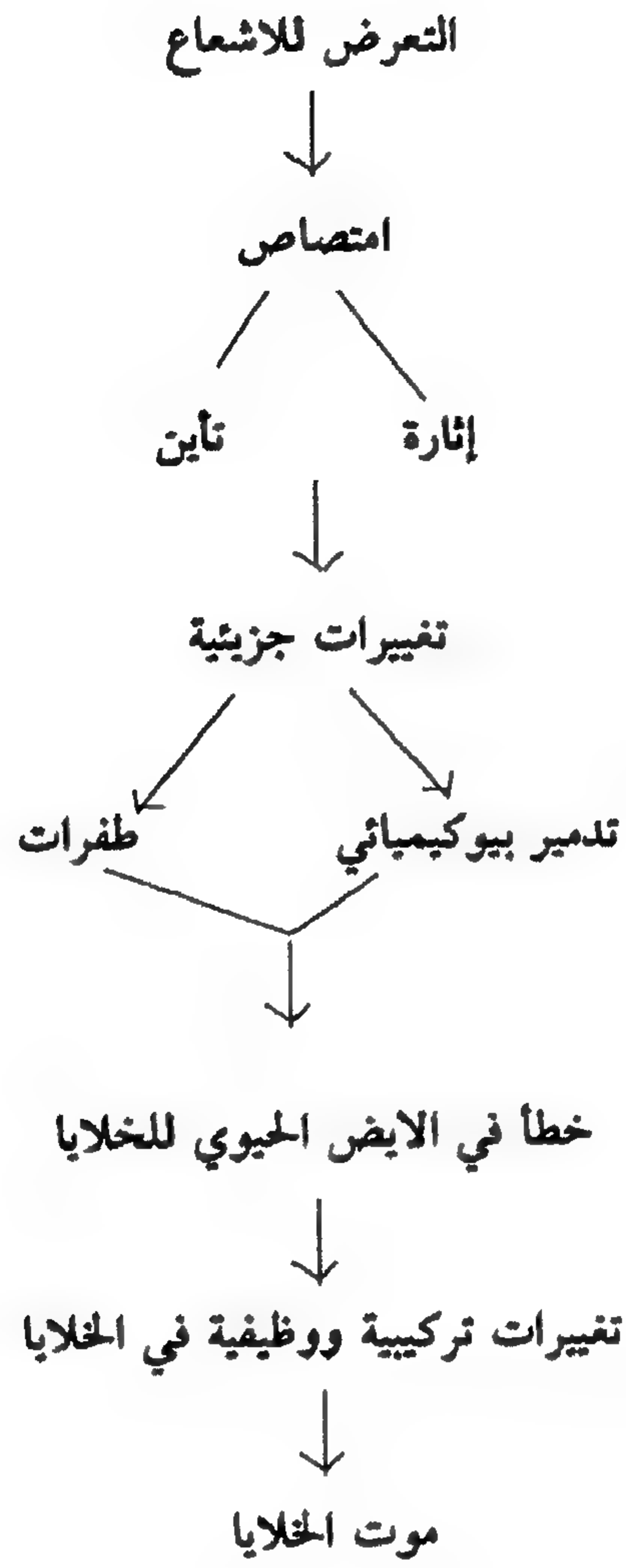
### اصباغ الاكردين :

وتضم الاكردين البرتقالي والبروفلاين وغيرها لها فاعلية كبيرة لاحداث طفرات بإضافة او حذف عدد من القواعد التروجينية .

### المركبات شبيهة القواعد **Base Analogs**

وتضم المركبين **5- Bromouracil** , **2-Aminopurine** وهي مركبات تشبه القواعد التروجينية وتحل محلها في تركيب الدنا اثناء عملية التضاعف

وبذلك تتكون أخطاء تؤدي الى حدوث الطفرة فال **5-BROMOURACIL** يشبه الثايمين ويتزاوج بدلاً منه مع الادنين ويحدث طفرة ثنائية الاتجاه مثل حامض الثيروز اما المركب الثاني **2-Aminopurine** فإنه يعمل على الدنا كما هو الحال للمركب الاول ولكن على البيورينات الكواتين والسيتوسين وبنفس الطريقة . وبالرغم من أن نتائج معظم المطفرات عشوائي وحصيلتها غير معروف الا ان استعمال المطفرات في تحويل المادة الوراثية للاحياء المجهرية ذات الاهمية الاقتصادية والتي تطبق في مجال التكنولوجيا الحيوية كان ولا يزال واحد من الاساليب الشائعة نظراً لبساطة تركيب المادة الوراثية لها وسهول احداث تغيرات فيها . حيث تركز الابحاث والدراسات الحديثة على استنباط كائنات مطفرة لها انتاجية عالية لكثير من المواد ذات الاهمية للانسان كالتخميرات وتتطلب هذه العملية اساليب عزل وطرق تشخيص للمتطفرات المفيدة وتجنب الخطرة منها وهناك طرق عديدة لا يتسع مجال الكتاب لذكرها في كتب الميكروبيولوجي الصناعي . والشكل المخطط التالي يوضح تأثير الاشعاعات على الانظمة البايولوجية :



## **الفصل العاشر**

### **المادة الوراثية خارج النواة**





## المادة الوراثية خارج النواة

### EXTRACHROMOSOMAL GENETIC MATERIAL

من الواضح ان الحامض النووي DNA موجود في كلاً من الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء والتي تستخدم كحوامل للمادة الوراثية خارج الكروموسومات.

#### ١ - الميتوكوندريا MITOCHONDERIA

تمتلك جميع الخلايا الحية ما عدا البكتيريا والطحالب الخضراء - المزرقه والكريات الحمر البالغة على الميتوكوندريا وهي عضيات سايتوبلازمية صغيرة تتضاعف ذاتياً تتركب داخلياً من اغشية معقدة وهي تمثل مركز للتنفس الهوائي الخلوي . شكلها غير ثابت فقد تكون متطاولة او قضيبية طولها حوالي ٥ ميكرون وقطرها ٠.٥ ميكرون، وتختلف بالعدد فقد تحتوي الخلية عضية واحدة او عد الآف . تحتوي الميتوكوندريا على الحامض النووي DNA الخاص بها الذي يسمى ( mt-DNA ) مكوناته من القواعد تختلف من كلاً من الـ DNA النووي ومن الـ DNA في البلاستيدات الخضراء . ويتضاعف الـ DNA في الميتوكوندريا دون الاعتماد على الـ DNA النووي من خلال فعل الانزيم المبلمر -DNA-Polymerase الذي يختلف عن الانزيم المبلمر في النواة .

في العديد من الانسجة الحيوانية عديدة الخلايا مثل خلايا الكبد والخلايا المولدة للالياف يكون mt - DNA بشكل اشربة مزدوجة حلقيه يشبه الـ DNA البكتيري وزنه الجزيئي يبلغ ( ١٠×٦ ) . طوله حوالي ٥ ميكرون ويتكون من

١٤٠٠٠ زوج قاعدة ، كما دلت الابحاث ان الشكل الحلقي للـ **mt - DNA** موجود في الخلايا البشرية .

العديد من بروتينات هذه العضية يتم تخليقها بداخلها باستخدام **mt-DNA** كقالب ( مرصاف ) للـ **mt - RNA** ولكن بعض البروتينات التي تحتاجها الميتوكوندريا مثل السايوكروم (C) يتم تصنيعها خارج هذه العضية في الخلية كما تحتوي على الرايبوسومات الخاصة بتصنيع البروتينات، وهي تشابه ما موجود في البكتيريا لذلك فإن بعض المضادات الحياتية مثل **Chloramphenicol** الذي يثبط تخليق البروتينات في بدائية النواة فإنه يثبط ايضاً تخليق البروتينات في الميتوكوندريا وفي الخلايا حقيقية النواة مثل الخمائر فإن **mt-DNA** له خصائص مختلفة عن **DNA** النواة في الكثافة والنسبة من القواعد التروجينية GC الى AT .

### البلاستيدات الخضراء : CHLOROPLASTS

تنشأ البلاستيدات الخضراء من البلاستيدات الأولية **Proplastid** التي لها القدرة على الانقسام وزيادة العدد وتقع تحت سيطرة الـ **DNA** النووي . ولقد لوحظ في بعض الدراسات ان **DNA** في البلاستيدات الخضراء العائدة للطحلب **Acetabularia** يكون ذو لف فائق والوزن الجزيئي للـ **cp - DNA** في البلاستيدات الخضراء في النباتات العليا يبلغ اكثر من  $85 \times 10^6$  وبالمقابل فإن الـ **cp - DNA** في الطحلب احادي الخلية الكلاميدوموناس يبلغ  $10 \times 10^9$  بينما يبلغ في اليوجلينا حوالي  $902 \times 10^7$  وهو اصغر من **DNA** البكتيريا المعوية وبشكل عام فإن جميع الدراسات تشير الى ان **cp - DNA** يكون مغلق وحلقي ومن جزيئات مزدوجة ومن الواضح ان **cp - DNA** يختلف في

مكونات النكليوتيدات عن DNA النواة حيث وجد ان الاشعة الفوق بنفسجية تعمل على تدمير cp - DNA بينما لا يحدث هذا في DNA النواة كما وجد ان البلاستيدات تحتوي على انزيم البلمرة الخاص بها ( cp - Polymerase ) يستطيع ان يتضاعف وانه من نوع النصف محافظ ويحدث التضاعف في فترة زمنية مختلفة عن الفترة التي يحدث فيها تضاعف DNA النواة .

تحتوي البلاستيدات الخضراء على الحامض النووي الرايبوزي وعلى الرايبوسومات وهي جسيمات اصغر من رايبوسومات السايروبلازم في الحجم وهي تشبه رايبوسومات البكتيريا كما ان لها نفس معدل الترسيب وانها تثبط بواسطة ال Chloramphenicol .

### التشكل الوراثي في البكتيريا

## RECOMBINATION IN BACTERIA

تخزن المعلومات الوراثية في البكتيريا في :

١- كروموسوم رئيسي مفرد Single Main Chromosome

٢- في كروموسوم صغير Minichromosome التي يطلق عليها بالـ

Episomes والبلازميدات Plasmids .

تختلف البلازميدات اختلافاً كبيراً من حيث الحجم فهي تتراوح بين بلازميد حامل لثلاث جينات الى بلازميد يحمل عد مئات من الجينات . فالبكتيريا الحقيقية تؤوي حوالي ١١ بلازميد مختلف بالاضافة الى الكروموسوم الرئيسي .

هناك ثلاث عمليات يتم بواسطتها نقل المادة الوراثية من خلية بكتيريا الى اخرى

بحيث تحصل عملية تحول ( التشكيل الوراثي ) Recombination وهي :-

١- Transformation التحول الوراثي .

وهي عملية نقل المادة الوراثية DNA من خلية (donor معطي) بكتيريا الى اخرى (المستقبل) Recipient .

٢- Transduction التحول الوراثي المنقول .

وهي عملية نقل المادة الوراثية من خلية (المعطي) الى خلية اخرى (المستقبل) بواسطة حملها عن طريق العاثيات Bacteriophages .

٣- Conjugation الاقتران .

وهي عملية نقل المادة الوراثية من خلية (المعطي) (ذكورية male) الى اخرى (مستقبلة) (انثى femal) خلال شعيرات التكاثر Sex Pili او انبوب التزاوج Conjugation - tube .

## البلازميدات PLASMIDS

تحمل المادة الوراثية في البكتيريا في كروموسوم رئيسي واحد وهناك العديد من الحالات التي توجد فيها مادة وراثية خارج الكروموسومات ، واحد او اكثر يطلق عليها اسم الكروموسوم الصغير Mini Chromosome او البلازميد Plasmid وهو بعكس Episome التي هي قطع من الـ DNA مدمجة مع الكروموسوم الرئيسي اما البلازميد فيوجد خارج الكروموسوم في السايروبلازم .  
ولقد ازدادت اهمية البلازميدات في العقدين الاخيرين من هذا القرن وذلك لاهميتها العملية في مجالين هما :

- ١- انتشار مقاومة العديد من المضادات الحيوية والعقاقير في البكتيريا المرضية .
- ٢- عدم ثبوت Instability الاحياء المجهرية الصناعية الهامة، فمثلاً البكتيريا Streptococcus lactis المستخدمة في صناعة الجبن لوحظ فيها عدد من البلازميدات التي تحمل جينات خاصة لصناعة الانزيمات المهمة في عمليات التخمير عند صناعة الاجبان .



توجد ثلاثة انواع رئيسية من البلازميدات والتي درست بشكل معمق وهي :

١ - بلازميد عامل الخصوبة **Fertility - Factor** و **F- F- Plasmids**

فقد وجد في البكتيريا المعوية **E . Coli** عامل الخصوبة الذي يقوم بتحويل البكتيريا **F** (الانثوية) وهي البكتيريا المستلمة حيث تكتسب صفات جديدة نتيجة هذا الانتقال، اما البكتيريا المانحة (**Fe+ (Donor)** ( الذكورية ) لهذه الصفات فيطلق عليها البكتيريا ذات التردد العالي في حدوث هذا التحول **High Frequency** **Recombination (HFr)** ويستفاد من هذه الظاهرة في رسم الخرائط الكروموسومية **Chromosome Map** في البكتيريا وهذا النوع يحصل في البكتيريا المقترنة **Conjugative** . اما النوع الاخر من البلازميد فهو الذي يوجد في البكتيريا غير المقترنة **Non - Conjugative** حيث لا يحصل نقل الدنا **DNA** بالاقتران بعبارة اخرى ان الانتقال عند حصول الاقتران لعامل (**F**) يحدث من (**F+**) الى (**F-**) التي تتحول الى (**F+**) وتحصل الخلايا على عامل الخصوبة .

وفي بعض البلازميدات يطلق على المادة الوراثية اسم **Episome** مثل عامل الخصوبة .

وتضاعف ال **Episome** بطريقتين اما :

- ١ - كمادة وراثية مندمجة مع كروموسوم الخلية المضيف **Host** . او
- ٢ - تبقى بشكل مستقل وغير معتمدة على تضاعف كروموسوم الخلية المضيف (**Host cell**) . نستطيع البكتيريا الحاملة لعامل الخصوبة تخليق نوع خاص من البروتين لوجود الجين الخاص بذلك لتكوين الاهداب الجنسية **Sex - Pili** التي تساعد في التصاق البكتيريا هذه مع خلية انثوية ويتم انتقال ال **DNA** اليها .



٢- بلازميدات مقاومة المضادات الحياتية

### Antibiotics Resistance Plasmids

او ما يطلق عليها عوامل ( R ) **R-Factors** وهي بلازميدات تحمل جينات مقاومة لكثير من المواد الكيميائية التي تتضمن العقاقير الطبية التي تحارب الاصابات المرضية ومن هذه العقاقير : كلورامفينيكول - البنسلين - تراسايكلين مركبات السلفا **Sulfonamides** وغيرها من المضادات البكتيرية .

والعوامل ( R ) تتكون من جزئين هما :

عامل نقل المقاومة **Resistance Transfer Factor (RTF)** وهو المسؤول عن عمليات النقل ومقاومة المضاد الحيوي **Tetracycline** .  
والجزء الثاني هو **r-Factor** والذي يتضمن مقاومة جميع المضادات الحيوية الاخرى .

ويضم كثير من البكتيريا مثل **Shigella** و **Escherichia** و **Salmonella** هذه البلازميدات التي تحمل جينات لها القدرة على تخليق بعض الانزيمات التي تقوم بتعطيل فعل المضادات الحياتية والتي تنشأ عنها ضروب تسبب مشاكل للانسان في علاج الامراض .

اذ وجد ان جينات المقاومة يمكنها الهجرة من وحدة بلازميد الى اخرى ولها القدرة على القفز التي تسمى بجينيات القافزة **Transposons** من البلازميد الى الكروموسوم وتتميز هذه الجينات بعدم قدرتها على التكرار ذاتياً الا اذا ارتبطت مع البلازميد او الكروموسوم .

٣- بلازميدات الكوليسين **Colicins - Plasmids** او ما تسمى بـ **Colicinogenic Factors (col - factor)** وهي عبارة عن وحدات وراثية مكونه من الـ **DNA** تحمل وحدات لانتاج الـ **Colicins** وهي عبارة عن بروتينات تعمل على قتل البكتيريا المعوية الحساسة .

كما توجد انواع تعمل على تخليق مواد تعرف بالـ **Bacteriocins** وهي مواد سامة للخلايا البكتيرية التي تكونها ويتركز تأثيرها على الاغشية السايثوبلازمية او على الرايوسومات .

ومثال ذلك بلازميد بكتيريا الـ **Vibrio** تخلق **Vibriocins** تعمل هذه على قتل الخلايا الحساسة لـ **Vibrio cholerae** ومن الملاحظ ان البكتيريا التي تملك هذا النوع من البلازميدات لا تنتج كميات كبيرة من الـ **Bacteriocins** الا اذا هومت ببعض المركبات المسببة للطفرات ويستفاد من الـ **Bacteriocin** في التمييز بين سلالات نفس النوع عند تشخيص الحالات المرضية .

يوجد انواع عديدة من الكولسينات كل منها له القدرة على القتل ومن اهمها **Colicin (K)** الذي يشبط تضاعف الـ **DNA** واستنساخ الـ **RNA** ويشبط تخليق البروتينات .

#### ٤ - بلازميد تاي **Ti - Plasmid**

وهو بلازميد محفز للسرطان في النباتات ذوات الفلقتين مثل عباد الشمس والطماطم والتبغ والجزر حيث انه يحمل **DNA** الذي يغير الخلية الاعتيادية الى خلية سرطانية **Tumor cell** الذي يعرف بالمحفز للسرطان **Tumor Inducing Plasmid** ويكتب اختصاراً بالـ **(Ti)** .

ويقترن هذا النمو السرطاني عند اصابة النبات بواسطة بكتيريا تعرف بالـ **Agrobacterium tumefaciens** حيث تعمل على تحفيز الاصابة السرطانية مكوناً نمواً متفخخ وهذا المرض هام من الناحية الاقتصادية خاصة بالنسبة للمحاصيل الحقلية والذي يتسبب عن دخول البكتيريا للنبات عن طريق جروح سطحية ومن ثم تتحد قطع من الـ **DNA** البلازميد التي تحمله البكتيريا مع قطع الـ **DNA** للخلايا النباتية .

ويحمل هذا البلازميد جينات تشفر ( تحمل شفرة ) لانزيمات تعمل على تكوين النمو السرطاني المستمر وغير المسيطر عليه .

تكمن أهمية البلازميدات بكونها ناقلات للجين التي تستخدم في الهندسة الوراثية **Genetic Ingeneering** .

ان اهمية البلازميدات في الهندسة الوراثية هو استعمالها كناقلات للجين وسياتي الكلام عنها لاحقاً .

كذلك تستخدم العاثيات **Phages** ( ملتقحات البكتيريا ) كناقلات للجين .

### الأييسومات : EPISOMES

وهي عبارة عن عناصر وراثية في الخلية وهي غير البلازميدات ويتم تضاعفها بطريقتين :-

- ١- اما انها تسلك كجزء مكمل للكروموسوم الرئيسي في الخلية المضيفة .
- ٢- او انها تسلك كعناصر وراثية مستقلة عن الكروموسوم الرئيسي للخلية المضيفة .

### العاثيات ( ملتقحات البكتيريا ) BACTERIOPHAGES

لا يوجد تركيب مثالي للفايروسات ولكن توجد عدد من التحورات في التركيب الاساسي .

وبشكل عام فإن مصطلح فايروس يعني غلاف خارجي بروتيني غير وراثي وفي اللب توجد المادة الوراثية وهي تكون عادة مادة الـ **DNA** وفي بعض الاحيان الـ **RNA** . ومن احسن انواع الفايروسات المعروفة التركيب هي الانواع المسماة - **T** **Phages** ( مثل **T2** , **T4** ) والتي تصيب البكتيريا المعوية **E.coli** . يتكون

جسم العائى ( ملتقمة البكتيريا ) **T** بشكل عام من جزئين هما الرأس **head** والذنب **tail** .

الرأس يتكون من غلاف بروتينى متطاوول هرمى الشكل ذو تركيب سداسى الجوانب قطره ٠.٠٦٥ ميكرون وطوله حوالى ٠.١ ميكرون يحتوى على المادة الوراثية **DNA** بطول حوالى ٦٨ ميكرون .

أما الذنب فيكون اسطوانى مجوف محاط بغلاف حلزونى من ٢٤ حلقة .  
الصفحة **Plate** توجد فى اسفل الذنب وتحتوى انزيمات حالة لحدار البكتيريا .

الاشواك والليفات وعددها ست لكل منها تتصل بالصفحة .  
لاحظ الشكل (١٠-١)

أما العائيات الأخرى فتبدو مختلفة من الناحية المورفولوجية على سبيل المثال العائى ١٧٤ × ٠ الذى يكون بشكل عنقود مكون من ١٢ تحت وحدات **Subparticles** كروية الشكل متماثلة .

وبشكل عام يوجد نوعين من العائيات حسب دورة تضاعفها ( الحياة ) - **life styles** هي : نقل بواسطة الفاجات **Transduction**

### ١- **Virulent Phages** ( الخطرة )

وفىها يتم بعد الإصابة تحلل خلية المضيف وتحرر عائيات جديدة وتكون جاهزة لإصابة خلايا جديدة . **Generalized Transduction** (الخاملة أو

### ٢- **Temperate Phages** ( المعتدلة )

وهي التي تصيب الخلايا ونادراً ما تحلل خلايا المضيف .

(كما فى العائى لامدا الذي يصيب الـ **E.coli** ) فهي تسلك **lytic**

**pathway** .



أ- دورة الحياة التحلل **lytic cycle** وفيها يتم تضاعف وتكاثر الفايروس ثم تحلل خلايا المضيف مثل النوع الاول **Virulent Phages** . او

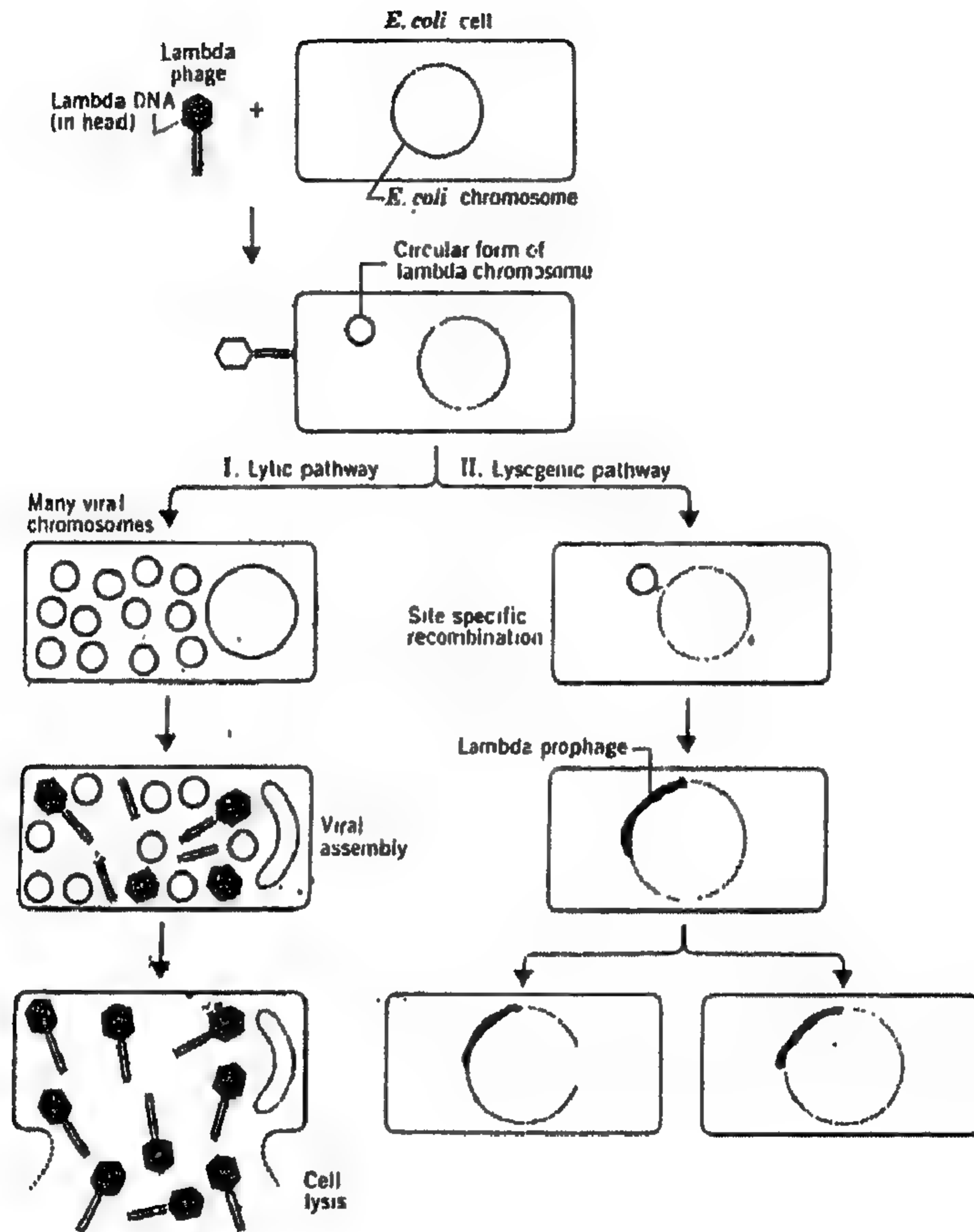
ب- انها تسلك دورة حياة اخرى **Lysogenic pathway** (اندماج) وفيها يتم اتحاد الكروموسوم مع كروموسوم الخلية المضيف ويتضاعف كما يتضاعف كروموسوم الخلية المضيف. ويطلق عليه بالـ **Specialized Transduction** لاحظ الشكل (١٠-٢) التحول المنقول الخاص ففي الحالة الاولى يتضاعف الـ **DNA** للعائي عدة مرات داخل خلية البكتيريا .

ومن ثم تتكون اغشية بروتينية مكونة ( ٥٠ - ٢٠٠ ) عائي جديد **New Bacteriophage** وبعد فترة قصيرة تتراوح بين ( ١٣-٢٢ دقيقة ) كما **T2** **T1** , ويتم افراز انزيم ( **Lysozyme** ) الذي يعمل على تحلل البكتيريا وتحرر كمائيات بالغة جديدة .

يمكن اجمال خطوات اصابة الفاج للبكتيريا بما يلي : -

- ١- التصاق العائي من الذيل على مواقع الاستسلام لجدار الخلية البكتيرية.
  - ٢- حقن **DNA Injection** للعائي في البكتيريا .
  - ٣- حصول تخليق جديد للـ **DNA** وبروتينات الغلاف .
  - ٤- تجمع مادة الـ **DNA** الفاج داخل اغلفة بروتينية جديدة .
  - ٥- تحلل خلية المضيف **Lysis** وتحرر عدة مئات من جزيئات الفاج .
- وهذه الخطوات تحدث في الـ **Virulent Phages** كما في الفاج **P1** الذي يصيب **E.coli** والفاج **P22** الذي يصيب الـ **Salmonella** والفاجات **PBS1** والـ **SP10** الذي يصيب **B.Subtilis** تستعمل العائيات كناقلات للجين في الهندسة الوراثية وسيأتي الحديث عنها .





شكل (١٠-١) مسلك حياة الفاج



## **الفصل الحادي عشر**

**الهندسة الوراثية**

**وتطبيقاتها**



## الهندسة الوراثية GENETIC ENGINEERING

### مقدمة :

يعبر مفهوم الهندسة الوراثية عن جملة من التقنيات الحديثة التي نشأت من خلال التقدم الواسع في علم الخلية وعلم الوراثة الميكروبية والبيوكيمياء وعلم الاحياء الجزيئي .

تهدف الهندسة الوراثية او التلاعب بالجينات **Gene Manipulation** الى هندسة الجينات بطريقة محكمة ومسيطر عليها. فنسخة الجين يمكن اثارها والصفات الوراثية يتم تتبعها بدراسة سلوك الجين المنقول او المعاد تخاده وكذلك نواتج الجين لاستخدامه في العلاج .

فهرمون الانسولين على سبيل المثال تنتجه خلايا البنكرياس بكميات ضئيلة ويساعد في ايض السكر الا ان الهندسة الوراثية ساعدت على انتاجه من خلال نقل الجين المسؤول من خلية الى البكتيريا ذات القدرة العالية على الانشطار والتكاثر ليتكاثر معها وبالتالي زيادة انتاج كمية الهرمون .

لقد استهدفت تطبيقات الهندسة الوراثية جميع البروتينات ضئيلة الكمية في انتاجها في جسم الانسان لانتاجها بكميات كبيرة لاستخدامها في طرق طبية مختلفة لحل الكثير من المعضلات الحياتية والطبية لغرض تحسين صحة الانسان وزيادة انتاج الغذاء وتحسينه .

تتطلب الهندسة الوراثية عمليات الاضافة **Addition** او النقصان **Deletion** او اصلاح **Repair** قطع من المادة الوراثية ونتيجة لذلك تتغير الصفات المظهرية **Phenotype** للكائن الحي .



إن تغيير الصفات المظهرية يمكن عملها باستخدام طرق عديدة مختلفة بالاستبدال أو الاحلال **Replace** أو باصلاح المادة الوراثية .

ان تحسين التقنيات في التحليل الكيميائي لعديد النكليوتيدات تنقية الجينات، وقطع الدنا واعادة اتحاد الدنا **Recombinant-DNA** واندساس **Insertion** والنقل والتضاعف والادخال **Integration** والتعبير **Expression** لمادة الدنا الغير متماثلة تستخدم بشكل واسع في مجال الهندسة الوراثية لكائنات حية مختلفة .

ان اول خطوة في عملية نقل الجين هو التماثل أو التطابق للجين أو قطعة الدنا التي يجري نقلها .

يمكن نقل الجين بسهولة ويسر اذا توفرت منه عدة نسخ نقية أو نقية نسبياً وذلك باستخدام تقنيات مختلفة للوصول الى هذه الغاية .

والجينات المنقاة يمكن ان تستخدم لتحويل خلية ما الى خلية مرغوبة بمساعدة لاقمات البكتيريا **Bacteriophages** أو البلازميدات **Plasmids** وعندئذ يمكن التحكم والتلاعب بتعبيرها والسيطرة عليها .

## التقنيات TECHNOLOGY

اولاً: التصنيع الكيميائي العضوي لعديد النكليوتيدات

### Organochemical Synthesis of Polynucleotides

لقد استخدمت هذه التقنية بعد المعرفة التامة بالتركيب الكيميائي الجزيئي للاحماض النووية . وهذه التقنية تزود الباحثين بطريقة سهلة للتلاعب والتحويل

لتكرار النكليوتيدات . تحتاج هذه التقنية الى قطع صغيرة جداً من الحامض النووي مع تكرار قواعد معينة لازمة للبناء وقد تمكن عدد من الباحثين من تخليق قطعة الدنا وامكن استخدامها في تكوين شفرة لاربعة عشر حامض اميني للهرمون **Somatostatin** الذي ينظم نمو الجسم وكذلك في انتاج هورمون الانسولين والكلوكاكون المنظم لمستوى السكر في الدم .

وللوصول الى هذه النتائج تم تخليق قطع صغيرة حوالي خمسة عشر قطعة من النكليوتيدات معروفة في تسلسل قواعد التروجينية على النهاية (-O - OH) وبمساعدة مركب الطاقة **ATP** والانزيم **Polynucleotide Kinase** ومن هذه القطع الصغيرة المتجاورة تم تصنيع معقد حلزوني مزدوج في محلول مائي وبالتالي تم ربط هذه القطع مع بعضها البعض بمساعدة انزيم الربط **Ligase** .

<u>1</u>	<u>4</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>10</u>	<u>12</u>	<u>14</u>
<u>2</u>	<u>3</u>	<u>5</u>	<u>8</u>	<u>13</u>	<u>15</u>	

القطع الصغيرة عدد (١٥) مزدوجة في المحلول والتي تربط بالانزيم **Ligase**

ثانياً : تقنيات نقل الكروموسومات

**Protoplast Fusion** : اندماج البروتوبلاست

لقد استخدم اندماج البروتوبلاست لأول مرة مع الخلايا النباتية والحيوانية للحصول على هجين **Hybrid** ذو صفات وراثية جديدة عن طريق نقل الكروموسومات وذلك بمساعدة عديد الايثانول الكلايكول **Polyethylene Glycol (PEG)** الذي يعمل على زيادة معدل اتحاد واندماج البروتوبلاست .

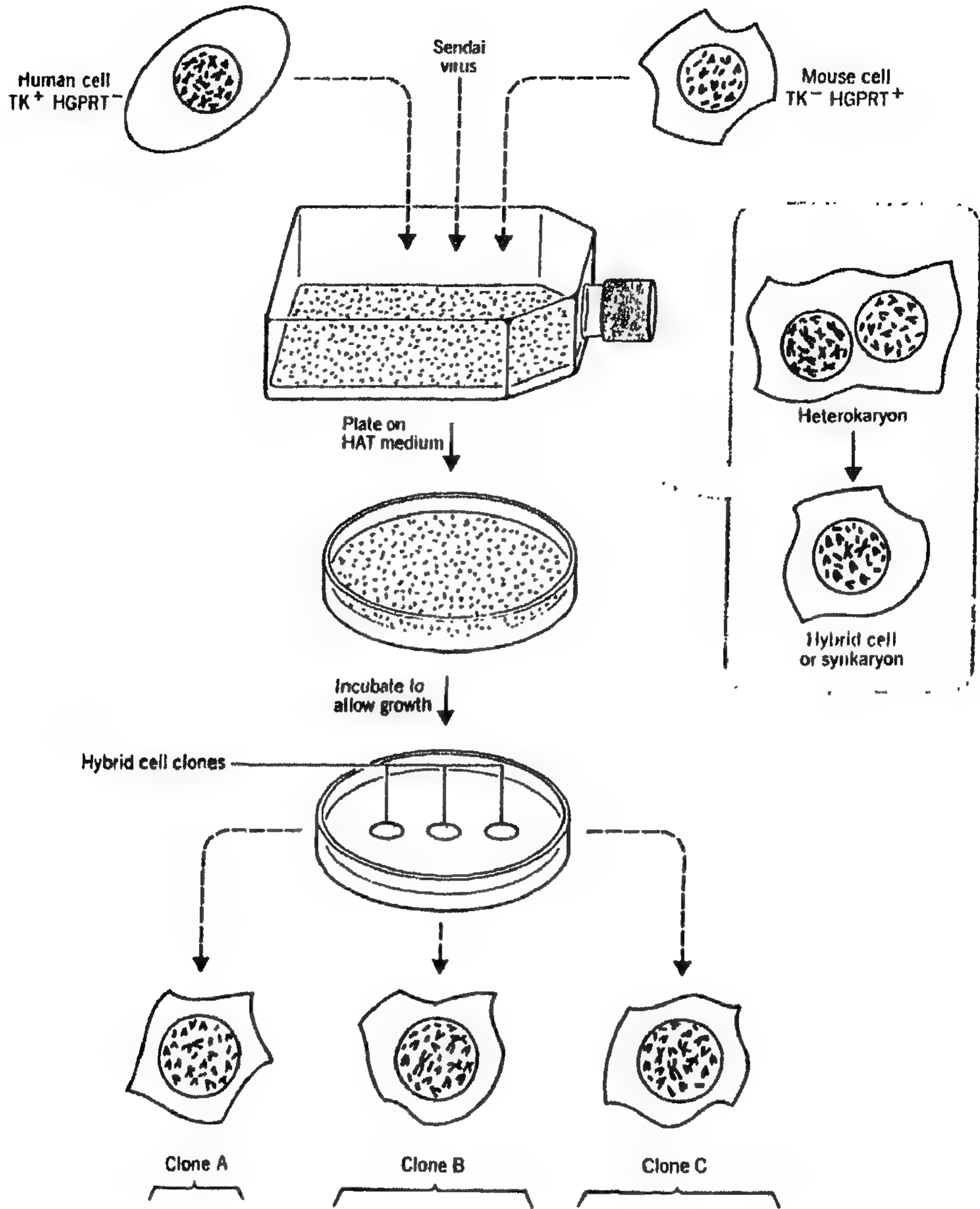
وعند تكون الكالوس **Callus** تضاف الهرمونات النباتية اللازمة لعملية التمايز لتكوين المجموعة الجذرية والخضرية ( الجبريلينات ) ومن ثم ينقل الهجين الى التربة .

تستخدم هذه التقنية للحصول على هجين لا يمكن الحصول عليه بالتهجين الخلطي ( لعدم التوافق ) وللحصول على اصناف نباتية مقاومة للأمراض النباتية والحشرات وحاملة لصفات مرغوب فيها .

كذلك استخدمت هذه التقنية مع الفطريات والبكتيريا والاكثينوميسيتات مثل انواع من الفطر البنسيليوم **Penicellium** وانواع من جنس **Aspergillus** ومع الخمائر مثل **Candida** وبها يمكن اعادة التشكيل الوراثي **Recombination** وبالتالي الى تحسين السلالات الصناعية .

وفي مجال الخلايا الحيوانية امكن دمج خلية الانسان جسمية مع خلية الجرذ لتكوين بروتوبلاست هجين ثنائي النواة الذي يتبعه اندماج النواتين بنواة واحدة وقد استخدم لهذا الغرض عديد الاثلين الكلايكول (**PEG**) او باستخدام الفايروس ساندي **Sandi Virus** المعاق اشعاعياً لزيادة معدل اتحاد البروتوبلاستات بعد تغيير اغشية الخلايا وذلك لان تكرار اندماج الخلايا ضئيل جداً بحيث لا يتعدى خلية واحدة لكل مليون خلية .

والهجين المتكون يستطيع العيش والانقسام ويحمل صفات الخليتين والشكل التالي ( ١١ - ١ ) يوضح عملية اندماج البروتوبلاستات لخلية الانسان الجسمية مع خلية الجرذ .



### ثالثاً : تقنية الهيريدوما : Hybridoma Technology

ويطلق عليها بتقنية الاجسام المضادة احادية النسلة **Monoclonal Antibodies** واساس هذه التقنية الاندماج الخلوي والحصول على هجين ذو تجمع وراثي جديد وقادت هذه الظاهرة الى تطور رئيسي في مجال علم المناعة .

من المعروف انه ليس بالامكان انتاج اجسام مضادة تقية في الحيوان الكامل لان هذه الحيوانات تتعرض بشكل متغير الى مستضدات **Antigens** مختلفة واغلبها تتضمن اختلافات انتيجينية محددة .

والنسلة الاحادية للاجسام المضادة تنتج بواسطة نمو الخلايا في المزرعة النسيجية في انبوبة الاختبار .

وهذه التقنية تم تطويرها من قبل ميلشتاين وكولر في منتصف السبعينات وقد مكنت هذه الدراسة الباحثين من دمج نوعين من الخلايا في خلية واحدة اطلق عليها اسم ال **Hybridoma** وهذه الخلايا الناتجة لها خصائص التعبير من كلا الخليتين الاميتين .

الخلية التي استعملت هي خلية سرطانية للجذري **Myeloma cell** مع خلية مناعية بائية **B - cell** منشطة من طحال جرذ محصن ( ملقح ) .

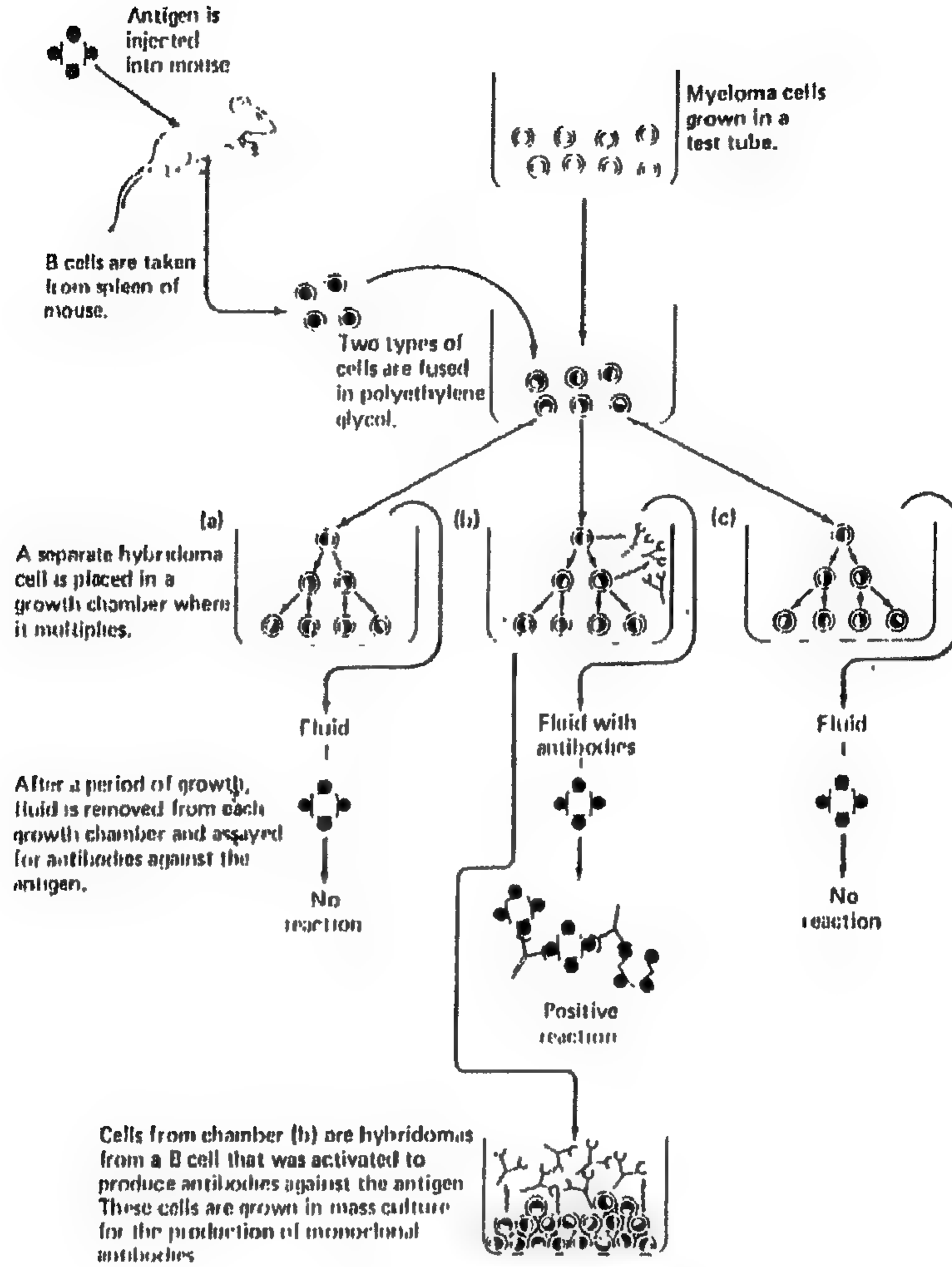
ان للخلية السرطانية ( المايلوما ) القدرة غير المحدودة للنمو في انبوبة الاختبار لكن ليس لها القدرة على انتاج اجسام مضادة معينة اما الخلية البائية فلها القدرة على انتاج اجسام مضادة خاصة ضد مستضدات معينة ولكن لا يمكنها النمو في انبوبة الاختبار .

اما خلية الهيريدوما الناتجة من اندماجهما فلها القدرة على النمو غير المحدود وانتاج اجسام مضادة خاصة في انبوبة الاختبار . ولم يسبق انتاج مثل هذه الاضداد النقية عندما كان الاعتماد على المخاليط غير النقية .

وغالباً ما يكون من الضروري حجز عدد من خلايا الهجين **Hybridoma** لايجاد واحدة لانتاج جسم مضاد نوعي مرغوب .

وفي الشكل التالي ( ١١-٢ ) يوضح تقنية الهيريدوما .





ويسبب خصوصيتها للعمل على مستضد واحد فإن التفاعلات بين الاجسام المضادة احادية النسلة مع المستضدات اكثر دقة من تلك التي تنتجها الحيوانات الكاملة .

وتستعمل هذه التقنية في تشخيص الكائنات المجهرية والمستضدات وفي الطب والعلاج ضد الامراض المعدية والسموم ومكافحة بعض انواع السرطان .

ومن التطبيقات الاخرى ان لها القدرة على الالتصاق مع بعض العقاقير المحقونة في جسم المريض وتلتصق على الانسجة المريضة المستهدفة حيث يتركز تأثير العقار ضد الهدف مع اقل اثر على الانسجة الطبيعية .

كذلك تستخدم في الاغراض الصناعية لاقتلاع مواد من مزيج للكيمياويات وتشخيص بعض المكونات الناتجة بواسطة تفاعلات مناعية .

كما استخدمت هذه التقنية لاندماج خلايا تائية مع خلايا تائية لمقاوية سرطانية فالخلايات التائية الاولى المحفزة بمستضد تستطيع انتاج اللمفوكينات **Lymphokines** وهي بروتينات مناعية تفرزها الخلايا اللمفاوية التائية **T-cell** ومنها الانترفيرون وعامل نخر الورم **Tumer Necrosis Factor** حيث يتكون الهجين الذي تصبح له القدرة على انتاج وفير من هذه البروتينات .

وقد وجد ان هذه البروتينات فعالة في علاج اورام السرطان إذ تعمل على تضيق وسد الاوعية الدموية في الانسجة السرطانية فيمنع بذلك التغذية عن الورم ويرفع القدرة السمية للكريات البيض .

#### رابعاً : - عزل الجين **Gene Isolation**

لقد استخدمت بنجاح تقنية نقل الجين بواسطة الفاجات **Transducing Phages** ونهجين الـ **DNA - DNA** في عزل جينات البكتيريا .

ان اول جين تم عزله في البكتيريا المعوية هو **Iac Operon** ان الجينوم المنقول بواسطة الفاجات هو اصغر بكثير من جينوم البكتيريا المستلمة وهذه الفاجات لها القدرة لحمل قطع صغيرة ومحددة لجينوم المضيف **Host Genome** ونتيجة لذلك يتحقق تنقية على درجة عالية .

فالاشرطة المكملة لجينوم البكتيريوفاج لـ  $(\lambda)$  امكن فصلهما بعضهما عن

بعض الى شريطين باستخدام تقنية الطرد المركزي المتدرج الكثافة المتساوي  
**Equilibrium Density Gradient Centrifugation** حيث ان  
 احد الاشرطة يكون من النوع الثقيل (**H Heavy**) بينما يكون الاخر من النوع  
 الخفيف (**L Light**) باستخدام محلول مشبع من كلوريد السيزيوم .  
**Poly GU** ( بوليمر مصنع ) يرتبط مع احد الاشرطة وهذا يبسر عملية  
 فصل الشريط الثقيل عن الشريط الخفيف وبشكل نقي .  
 وفي الشكل التالي يوضح استخدام طريقة عزل الجين وتنقيته للـ  
**Lac - Operon** للبكتيريا المعوية **E. Coli** .

خفيف <b>A J a y z i R</b>	خفيف <b>A J i z y a</b>
سلالة <b>A</b>	سلالة <b>B</b>
خفيف <b>'A J 'a 'y 'z 'i 'R</b>	خفيف <b>'A J 'i 'z 'y 'a</b>

فصل الشريطين ومزجهما

**A J N R** تمثل جينات البكتريوفاج بينما **a z y i** فتمثل جينات الـ  
**Lac - Operon** .

وتستخدم بعض الفاجات في النقل وخاصة بكتريوفاج لدا (  $\lambda$  ) هذه التقنية بسيطة وجيدة لكنها محدودة . اذ لا يمكن تطبيقها عند عدم توفر الفاج الخاص بالنقل .

كذلك يمكن استخدام تقنية تهجين **RNA - DNA** في عزل الجينات فلو امكن عزل جين الـ **m-DNA** بشكل كمي فيمكن استعماله كمصيدة (**trap**) للـ **DNA** المتمم على ورق الفلتر سليلوزي او على الاعمدة **Column** وطريقة العمل سهلة جداً .

اذ ان **m-RNA** المنقى يمكن ربطه كيميائياً على الورق السلليوز فالـ **DNA** المحتوي للجين المعزول يمكن تنقيته بتغير من طبيعته **Denatured** ليعطي اشرطة مفردة والتي تتكسر الى قطع صغيرة وهذه القطع غالباً تحمل جين واحد . فعندما تمر هذه القطع من خلال ورق الترشيح السلليوزي تحت شروط ملائمة للتهجين بين **DNA - RNA** فإن المتمم للـ (**cdNA**) يصطاد ومن ثم تمر القطع الاخرى خلال ورق الترشيح . ويمكن عزل الهجين **RNA - DNA** والاشربة المتصلة تنفصل ويمكن للشريط المفرد من الـ **DNA** ان يكون اشرطة مزدوجة بمساعدة جهاز من انزيمات البلمرة **Polymerase** مناسبة .

خامساً : تخليق الجينات انزيمياً

### Enzymatic Synthesis of Genes

اذا امكن عزل **m - RNA** بشكل نقي فإن جينه المناظر يمكن ان يخلق بسهولة بمساعدة انزيمات مناسبة .

( **Reverse Transcriptase** ) الانزيم الناسخ العاكس يمكن ان

يستعمل لتشكيل الشريط المفرد المتمم

(Complementary DNA (c DNA) على قالب m-RNA (والـ c DNA) يستخدم لتشكيل الـ DNA المزدوج الاشرطة، بمساعدة انزيمات التضاعف.

احدى الاكتشافات لاستخدام هذه التقنية تمت على تخليق قطعة الـ (cDNA) المتمم لتخليق الانسولين في الجرذ على m-RNA الخاص بالانسولين المعزول من جزر لانكسرهانس من البنكرياس (Ullrich et al 1977).

كذلك تمكن (Seeberg 1977) من تخليق المتمم (c DNA) على الـ m-RNA الذي يشفر لتخليق هورمون النمو (RGH) الذي يحتوي على 190 حامض اميني بعد عزل وتنقية m-RNA من خلايا الغدة النخامية Pituitary cells.

كذلك تمكن (Shine et al 1977) من تخليق الهورمون Chorionic Somatomammotropin (HCS) في الانسان بهذه الطريقة . لقد استخدمت هذه التكنولوجيا بشكل واسع وذلك لانها تحتاج فقط لكمية صغيرة نقية من الـ m-RNA .

سادساً : - اختيار الناقل

### Selection of A Vector

يعزل الجين او قطعة من الـ DNA وتنقى تصبح جاهزة لنقلها Transferred الى الخلية المرغوبة Desired cells . إن اختيار وعزل وتنقية الناقل (Vector (Carrier الملائم عملية ضرورية لنقل المادة الوراثية بنجاح . ويمكن استخدام البكتريوفاجات او البلازميدات كناقلات للمادة الوراثية . حيث



نعتبر هذه الناقلات كالحافلات وجزيئات الـ **DNA** كمسافرين وتعمل على تضخيم الجين **Gene Amplification** فالناقل له القدرة على التضاعف داخل الخلية المضيفة وجزيئات الـ **DNA** المحمولة يمكنها كذلك التضاعف معه .

فطالما الناقل هو المسؤول للتضاعف او تشكيل النسل **Cloning** الغريبة **Foreign** في مضيفه فيعرف لذلك بناقل النسل **Cloning Vector** .

هناك عدد من الاعتبارات الهامة لانجاح استعمال نقل النسل في الهندسة الوراثية **Gene Ingeneering** وكما يلي : -

١- يجب ان يحتوي ناقل النسلة على مواقع للانزيمات القاطعة المحددة **Restriction Endonuclease** التي تفتح الجينوم الدائري كلما وعندما تكون الحاجة لذلك .

٢- في حال المزيج من قطع الـ **DNA** المحمولة ( المسافرين ) والناقلات المفتوحة فيمكن توليد ثلاثة نماذج مختلفة من جزيئات الـ **DNA** المنقول النقي جزيئية **DNA** الناقل نقية وجزيئية مشكلة من اتحاد **DNA** المنقول والـ **DNA** الناقل .

فالشخص يتمكن من جذب هذه الناقلات واندساسها **Insert** في قطع الـ **DNA** الغريبة مع مزيج مغاير **Heterogenous** .

٣- حجم الناقل يجب ان يكون بعد الاتحاد مع الـ **DNA** المغاير لنقلها الى المضيف .

٤- الخلايا الحاملة لناقل النسلة المحور . **Modified C . V** يجب ان يكون بمائل يسر وحقيقة **With Certainty and Ease** .

٥- ناقلات النسلة ينبغي ان تخضع للحدود البايولوجية الصارمة لكي لا تهرب الى قطع غير مرغوبة من الـ **DNA** .

لقد استخدم لهذا الغرض البكتريوفاج (  $\lambda$  ) والفايروسات المقاربة له بشكل واسع لقبول ونقل النسلات وقطع ال DNA جينوم ( ) مضاعف ومستقيم Linear وزنه الجزيئي (  $31 \times 10$  ) ويكون معدي عندما يرتبط جينومه مع العلبة Capsid او الغطاء Coat .

البلازميدات Plasmids وهي قطع صغيرة خارج الكروموسومات التي تتضاعف ذاتياً توجد غالباً في اكثر اجناس البكتيريا .

النقل الوراثي خلال عملية الاقتران . يعتمد على جينات البلازميد . والبلازميدات تحمل جينات مقاومة للمضادات الحياتية والعناصر المعدنية الثقيلة لانتاج التوكسينات ( السموم ) والسموم البكتيرية Bacteriocins والقدرات الابضية غير الاعتيادية مثل تحلل المركبات العضوية المعقدة والبلازميدات غير لازمة للنمو او استمرار الحياة للخلية لأن ذلك يتم عن طريق جينات الكروموسوم الرئيسي .

إن اول بلازميد استخدم للنسلة الجزيئية Molecular Cloning هو (PSC 101) بلازميد ستانلي وكوهين (PSC) ١٠١ رقم السلالة . كذلك استخدم البلازميد COL E1 كناقل بشكل كبير وهو بلازميد يشفر لتكوين بروتين بكتيري Colicin E 1 الذي يقتل البكتيريا الاخرى الخالية منه . وتستخدم في الوقت الحاضر العديد من مشتقات هذا البلازميد . ويمكن ان توجد بلازميدات PSC 101 و Coli E1 منفصلة في نفس الخلية .

وبالبلازميدات الناقلة اصغر بكثير من كروموسوم  $\lambda$  والبكتيريا حيث يبلغ ( ١٥ - ١ زوج كيلو قاعدة ) بينما الكروموسوم ( من ٣٠٠٠ - ٥٠ ) الى ٥٠٠٠ وتتضاعف البلازميدات بشكل سريع جداً بالمقارنة مع تضاعف الكروموسوم الرئيسي حيث انه يعطي تحت ظروف مثلى ألف الى ثلاثة الاف نسخة في الخلية .

كذلك يمكن استخدام بلازميد خلايا الخمائر في نقل النسلات وفي الخلايا حقيقية النواة يستخدم DNA البلاستيدات الخضراء والميثوكوندريا والفايروس (Simian( S V 40 كناقلات .

كما ان بلازميد **Agrobacterium** الذي يسبب ورم في النباتات المصابة في النقل للخلايا حقيقية النواة .  
حيث يحمل الجين مع دنا الفايروس ليصيب الخلية المراد نقل الجين اليها فيندمج الجين المنقول مع دنا الخلية ويعمل فيها ويعبر عن نفسه بالاستنساخ والترجمة الى بروتين فعال كما يمكن نقل بلازميدات .

### سابعاً : - DNA - Recombinant

اعداد التشكيل الوراثي للـ DNA

او اعادة اتحاد الـ DNA

ويطلق على هذه التقني بالتوصيل ( ربط ) الجينات **Gene Splicing** والمصطلح **Recombinant - DNA** يعود الى ان جزيئات الـ DNA التي تخلق من ربط قطع من الـ DNA من كائن حي في قطع للـ DNA للكائن حي اخر . غالباً ما يكون كائن حي ( نبات او حيوان او بكتيريا او فايروس ) يستخدم كواهب للـ DNA وتستخدم في الوقت الراهن عادة البكتيريا المعوي

**E. coli** كمستقبل للـ **DNA** بشكل رئيسي . وتستعمل البكتيريا المعوية في هذه الدراسة بشكل خاص لان تطابقها الوراثي درس بشكل تفصيلي ومعروف حالياً الكثير عن وراثه وكيمياء الحياتية للبكتيريا المعوية اكثر من اي كائن حي اخر . ان جينات البكتيريا المعوية والتي تبلغ ( ٤٠٠٠ - ٣٠٠٠ ) تكون موجودة على كروموسوم واحد كبير حلقي الشكل . بالاضافة الى ذلك فإنها تحتوي على قطع صغيرة خارج الكروموسوم الرئيسي من الـ **DNA** تعرف بالبلازميدات والتي تتضمن على عدد قليل من الجينات . وتستخدم هذه البلازميدات في نقل قطع الـ **DNA** لغرض تقنية الربط ( الوصل ) **Splicing Technique** ويطلق على بلازميدات البكتيريا مصطلح الناقلات **Vectors** وذلك لان المعلومات الوراثية لها تسمح بإيواء وتضاعف جزيئات الـ **DNA** المادة الاتحاد **Recom-** **binant Molecule** في خلية البكتيريا المعوية . كذلك يستعمل **DNA** الحلقي للفاج ليمدا ( **phage λ** ) كناقل لاصابة الـ **E.coli** ولكن هذه التجارب هي اقل شيوعاً واكثر خطورة من الناقلات السابقة اعلاه .

فعند توصيل قطعة **DNA** غريبة تحتوي على معلومات لصفات مرغوب فيها الى ناقل للـ **DNA** بمساعدة لانزيمات القاطعة ( المقيدة ) **Restriction Endonuclease** والانزيمات الرابطة **Ligase Enzymes** فإنه يحدث تقنية اعادة تشكيل الـ **DNA** التي يمكن نقلها مباشرة الى مضيف **Host** مناسب لغرض تضاعفها وتكوين نسلات **Cloning** منها وكما في الخطوات التالية  
(Steps) :

١- نقل البكتيريا المعوية الى محلول تنظيف **Detergent** لغرض كسر وفتح الخلايا .

٢- عزل البلازميدات عن الكروموسوم الرئيسي باستخدام الطرد المركزي التفاضلي .

٣- استخدام الانزيمات القاطعة ( **endonucleases** ) لشطر البلازميدات الى قطع صغيرة معينة لخلق نهايات لزجة **Sticky Ends** .

٤- باستخدام نفس انزيم القطع مع **DNA** الغريب من كائن حي اخر يتم انتاج قطع من الـ **DNA** لها نهاية متممة الى البلازميدات وبما ان الانزيمات القاطعة المختلف تحتوي على مواقع انشطار مختلف فيعطي شريط الـ **DNA** عدد من القطع مختلفة الاطوال ومن ثم يكون من الممكن ادخال **Insert** اي جينات عربية في خلية **E.coli** .

٥- يعمل انزيم الربط **DNA - Ligase** على ربط وسط القطعة الغريبة في مكان ما في البلازميد .

٦- ينقل البلازميد المعاد ربطه في محلول كلوريد الكالسيوم الذي يحتوي على خلايا **E.coli** . وعند تسخين المحلول فإن غلاف الخلية يصبح نفاذ **Permeable** ويسمح بدخول البلازميد .

٧- تتكاثر خلايا **E.coli** بالانقسام بمعدل مرة كل ٣٠ - ٢٠ دقيقة . فالخلايا الجديدة الناتجة تحتوي على صفات من جيناتها الاصلية بالإضافة الى الجينات التي نقلت اليها من انواع مختلفة .



تساعد هذه التقنية الباحثين على رسم خرائط وتسلسل الجينات والكشف عن الوظائف المختلفة لجينات الكائنات الحية .

ان فهم وظيفة الجين وتنظيم الجين هي هدف اساسي للباحثين في علاج مرض السرطان .

كما يمكن علاج الكثير من الامراض الوراثية .

فإذا امكن دس ( ادخال ) الجينات الملائمة في خلايا **E.coli** فإنه يمكن انتاج كميات وفيرة من الانسولين ( لأمراض السكر ) وعوامل التخثر في حالة الاصابة بنزف الدم الوراثي ( الهيموفيليا ) والانزيمات المفقودة والهورمونات والفيتامينات والاجسام المضادة الخ ...

فجزيئات اعداد تشكيل الـ **DNA** التي تتضمن جينات تخلق وانتاج الانترفيرون **Interferon** ( وهو بروتين سكري **Glycoprotein** ) الذي يعمل على قتل الفايروسات والمحفز لجهاز المناعة ) والانسولين البشري وهورمونات النمو والانزيم **Urokinase** وهو انزيم بشري يستعمل سريرياً في ذوبان تخثر الدم ) فإنها تمت بنجاح في خلايا البكتيريا المعوية .

كما انه بالامكان تربية البكتيريا المعوية البشرية التي تهضم السليلوز لتكوين سلالات تعمل على تكسير المركبات وتنظيف بقع الزيت وكذلك تخلق نباتات جديدة تستطيع ان تحصل على النتروجين مباشرة من الهواء بدلاً من المخصبات .

وفي الاونة الاخيرة استطاع الباحثين في علم الاحياء الجزيئي النباتي من استخدام بلازميدات انواع من البكتيريا مثل بكتيريا **Agrobacterium tumefaciens** والتي تسبب اورام في العديد من النباتات .

وقد نجح العلماء لتقديم جينات للعديد من البروتينات الغريبة ( من ضمنها

بروتينات حيوانية ) في النباتات بواسطة هذه البكتيريا وفي نفس الوقت تعمل على ازالة قدرتها على حدوث الورم .

ومن التطبيقات العملية هو نقل جين ضروري لتخليق نقصان حامض اميني في نبات معين ( مثل جين الميثونين في نبات الصويا ) .

ولكن من ناحية اخرى ربما تسبب هذه الكائنات المهجنة اضرار كبيرة فسيولوجياً وبيئياً وصحياً بهذه التقنية لا يتنبأ بالعاقبة .

وقد تمكن احد الباحثين من تطوير سلالة من **E.coli** عام (1976) لا يمكنها النمو الا تحت ظروف المختبر ( اذ تحتاج الى مغذيات تضاف للوسط لكي تعيش ) والتي اصحت قد الاسعالات في الوقت الحاضر لتطبيقات تكنولوجيا اعادة التشكيل الوراثي . **Recombinant** .

وفي مجال انتاج اللقاحات **Vaccines** لبعض الامراض الخطرة مثل التهاب الكبد الفيروسي **Hepatitis B Virus** وفي محاربة مرض نقص المناعة المكتسب ( الايدز ) .

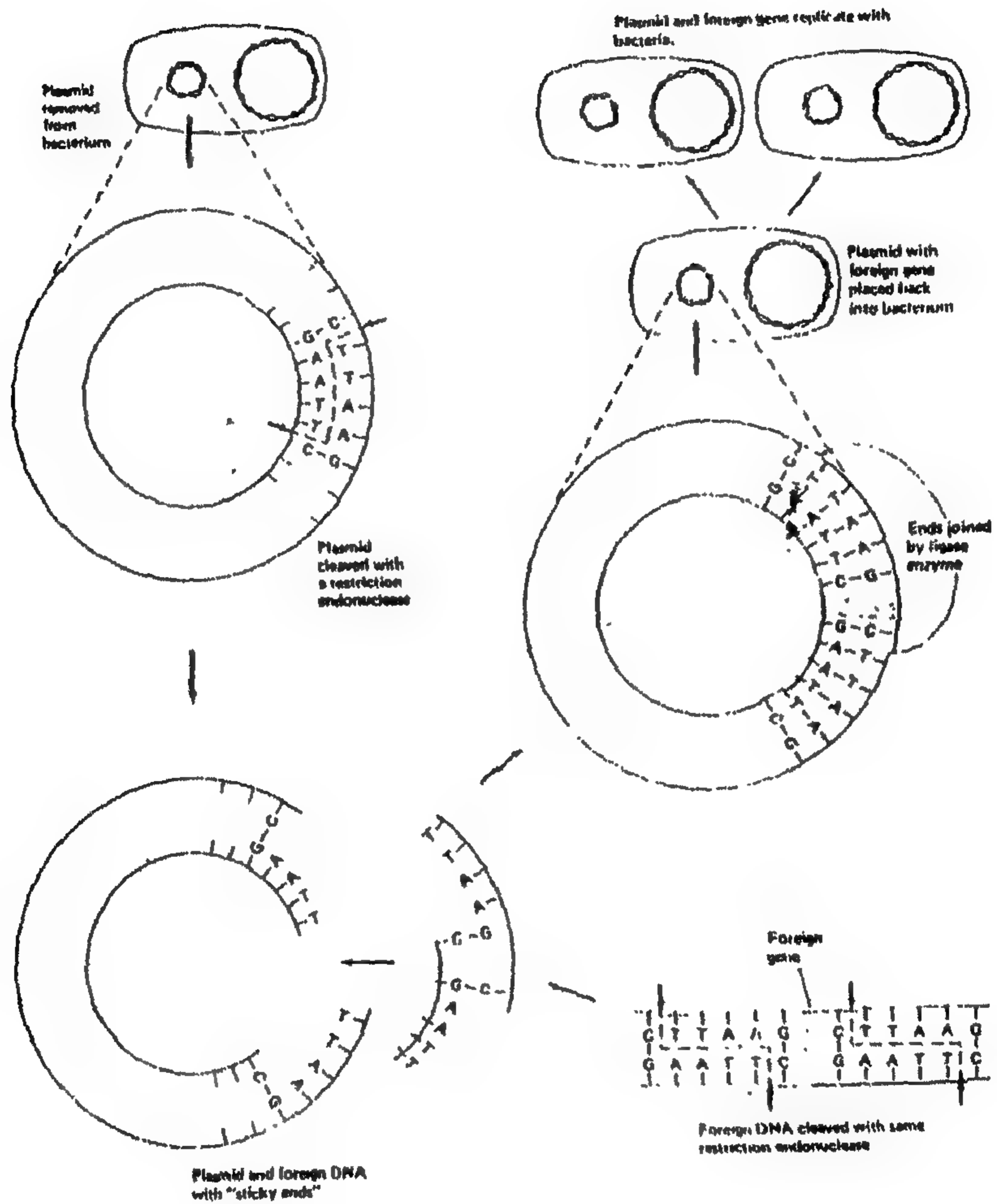
كذلك تستخدم هذه التقنية في انتاج بروتين احادي الخلية **Single Cell Protein** التي تستخدم كأعلاف للمواشي والدواجن والاسماك .

وفي مجال التلوث تم انتاج انزيمات محللة لكثير من المواد بدل استعمال المواد الكيميائية .

كما ان هناك دراسات حول استبدال الاسمدة الكيماوية التركيبية بواسطة تثبيت النتروجين بين البكتيريا والنباتات غير البقولية .

وفي الحقل الصيدلاني لانتاج المضادات الحياتية ومواد علاجية ضد الديدان الطفيلية وغيرها .

شكل ( ١١ - ٤ ) يبين عملية نقل الجين الى البكتيريا بواسطة الهندسة الوراثية



## المراجع

- Alberts , B. ( 1983 ) The Molecular of the cell.
- Arber , W . (1985 ) : Recombinant DNA technology. Swiss Biotech (3) .
- Becker , W .M (1990 ) The world of the cell Menlopark , Benjamin , Calf .
- Bernard , D . D. etal (1980 )
- Microbiology , Immunology, Molecular genetics (3rd edit.) Harper and Row pub .
- Burns , G .W .(1980) : Scince of Genetics 4th edit.
- Campell , P .N . (1965) : Protein biosynthesis Prog . Biophys . Mol . Biol . 15 .
- Davidison , J .N .(1972) : The Biochemistry of the nucleic acids 7th (AP) NY .
- De Roberties , E .D . and De Roberties (1987) cell and Molecular Biology 8th philadlephia .
- Emery , A . E . H (1985) An Introdtion to Rcombinant DNA Wiley , Chichester .
- Gardner , E .J and D . P . Snustad (1984 ) Principles of Genetics (17th) .
- Giese , A . (1979) cell physilogy (5th edition) W . B. Saunders .philadlephia .
- Karp , G .(1984) : cell Biology (2nd edition ) Mc Graw Hill book .
- Luria , S .E .et al (1978) General Virology (3rd edition) J .W .

- Nanniga , N .(1985) : Molecular Cytology of . E . coli . ( AP ) .
- Sheeler , P .and Bianchi , D .E .1987 cell and Molecular Biology . Structure , Biochemistry , Function . J . W .
- Stent , G .S . 1971 : Molecular genetics Freeman San Fransico.
- Wang .J . C. 1985 : Topoisomerases Ann . Rew . Biochemistry 54 .
- Watson , J .D . etal (1992) Recombinant DNA (2nd edition) Sci . Amer . Book N Y.



















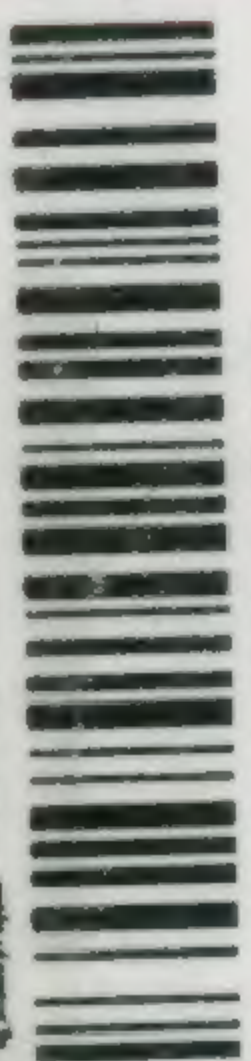




مقدمة في  
علم الأحياء الجزيئي



Bibliotheca Alexandrina



1503712



9 789957 402464

دار صفاء للطباعة والنشر والتوزيع

المملكة الأردنية الهاشمية - عمان - شارع الملك حسين  
مجمع القديس النجاشي - هانينا - 962 6 4611169  
تلفاكس: 962 6 4612190 صرب 922762 عمان 11192 الأردن  
Safa@darsafa.info Safa@darsafa1.net Safa@darsafa.net



دار صفاء للنشر

دار صفاء للطباعة والتوزيع

